

ANNEE 1966

THÈSE

N°

809

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

DIPLOME D'ÉTAT

PAR

Gérard, Jacques MELKI

né le 13 septembre 1940 à Constantine (Algérie)

Externe des Hôpitaux de Paris

Licencié-ès-Sciences Physiques

Diplômé d'Etudes Supérieures de Biochimie et de Génétique

Présentée et soutenue publiquement le : 1966

HISTOIRE DE LA THALASSEMIE

Président : M. Jean BERNARD, Professeur.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41533912_0003

ANNEE 1966

THÈSE

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

DIPLOME D'ÉTAT

PAR

Gérard, Jacques MELKI

né le 13 septembre 1940 à Constantine (Algérie)

Externe des Hôpitaux de Paris

Licencié-ès-Sciences Physiques

Diplômé d'Etudes Supérieures de Biochimie et de Génétique

Présentée et soutenue publiquement le :

HISTOIRE DE LA THALASSEMIE

Président : M. Jean BERNARD, Professeur.

1812

1812

1812

1812

1812

1812

1812

1812



1812

1812

1812

1812

1812

1812

1812

1812

1812

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. Alajouanine (T.), Aubin (A.), Bénard (H.), Binet (L.), Bulliard (H.), Cathala (J.), Chabrol (E.), Chailley-Bert (P.), Debré (R.), Fey (B.), Galliard (H.), Gaudart d'Allaines (F. de), Gennes (L. de), Halphen (E.), Hazard (R.), Heuyer (G.), Laroche (G.), Lavier (G.), Lelong (M.), Lévy-Solal (E.), Lian (C.), Marchal (G.), Mathieu (P.), Monod (R.), Moreau (R.), Moulouquet (P.), Pasteur Vallery-Radot, Petit-Dutailis (D.), Piédelièvre (R.), Quénu (J.), Renard (G.), Richet (C.), Senèque (J.), Strohl (A.), Tanon (L.), Verne (J.).

DOYEN Georges BROUET.

1^{er} ASSESSEUR } Daniel BARGETON

2^e ASSESSEUR } Jean GOSSET

I. — PROFESSEURS**1^o CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES****a) Professeurs titulaires :**

	MM.
Anatomie	DELMAS (A.)
Anatomie et cytologie pathologiques	DELARUE (J.)
Anesthésiologie	BAUMANN (J.)
Bactériologie et virologie	TOURNIER (P.)
Biochimie médicale	JAYLE (M.-F.)
—	POLONOVSKI (J.)
Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports	MALMEJAC (J.)
Biologie médicale	FAUVERT (R.)
Biophysique médicale	BUGNARD (L.)
—	DOGNON (A.)
—	DJOURNO (A.)
Cancérologie médicale et sociale	DENOIX (P.)
Chimie pathologique	SCHAPIRA (G.)
Embryologie	TUCHMANN (H.)
Génétique fondamentale	LEJEUNE (J.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie	COURY (Ch.)
Histologie	GIROUD (A.)
Hygiène et médecine préventive	BOYER (J.)
Médecine du Travail	DESOILLE (H.)
Médecine légale	DEROBERT (L.)
Microbiologie (Bactériologie et virologie)	FASQUELLE (R.)
Parasitologie	BRUMPT (L.-C.)
Pathologie chirurgicale	LAURENCE (G.)
—	KUSS (R.)
—	VERNE (J.-M.)
Pathologie exotique	N...
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN (F.-P.)
Pathologie médicale	LAROCHE (Cl.)
—	BRICAIRE (H.)
—	PÉQUIGNOT (H.)
Pathologie respiratoire	TURIAF (J.)
Pathologie et thérapeutique générales	N...
Pharmacologie	CHEYMOL (J.)
—	LEVY (Mlle J.)
Physiologie	BARGETON (D.)
—	PARROT (J.)
Physiologie et pathologie obstétricales	LEPAGE (F.)
Radiologie médicale	DESGREZ (H.)

	MM.
Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale	CAUCHOIX (J.)
Thérapeutique	CONTE (M.)
Thérapeutique appliquée	LAMOTTE (M.)
b) Professeurs à titre personnel :	
Anatomie anthropologique	OLIVIER (G.)
Anatomie pathologique	NEZELOF (Ch.)
Bactériologie	BARBIER (P.)
	{ DESGREZ (P.)
Biochimie médicale	{ DREYFUS (J.-Cl.)
	{ BOURLIÈRE (F.)
Biologie médicale	{ COUJARD (R.)
Histologie	{ LARIVIÈRE (M.)
Parasitologie	{ LOEPER (J.)
	{ RICHET (G.)
Pathologie expérimentale	{ DEJOURS (P.)
	{ ROUCAYROL (J.-Cl.)
Physiologie	{ SCHERRER (J.)
	{ KELLERSHOHN (L.)
Physique médicale	{ GOUGEROT (L.)
	{ TUBIANA (M.)
Radiologie médicale	{ FISCHGOLD (H.)

2° CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

a) Professeurs titulaires :	MM.
Clinique carcinologique chirurgicale (Necker)	REDON (H.)
Clinique cardiologique (Broussais)	SOULIÉ (P.)
— — (Boucicaut)	LENÈGRE (J.)
	LORTAT-JACOB (J.-L.)
	N...
Cliniques chirurgicales	{ COCHIN
	{ LÉGER (L.)
	{ HÔTEL-DIEU
	{ PATEL (J.)
	{ SAINT-ANTOINE
	{ GOSSET (J.)
	{ SALPÊTRIÈRE
	{ SICARD (A.)
	{ TENON
	{ OLIVIER (Cl.)
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique (Cochin)	MERLE d'AUBIGNÉ (R.)
— — — (Foch)	PADOVANI (P.)
Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants-Malades)	FÈVRE (M.)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais)	DUBOST (Ch.)
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire (Laennec)	MATHEY (J.)
Clinique dermatologique (Saint-Louis)	DUPERRAT (F.)
Clinique endocrinologique (Pitié)	DECOURT (J.)
Clinique de Génétique médicale (Enfants-Malades)	LAMY (M.)
Clinique gynécologique (Broca)	HUGUIER (J.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (Saint-Louis)	DEGOS (R.)
Clinique des maladies des enfants (Enfants-Malades)	TURPIN (R.)
Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard)	MOLLARET (P.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Sainte-Anne)	DELAY (J.)
Clinique des maladies métaboliques (Necker)	HAMBURGER (J.)
Clinique des maladies du sang (Broussais)	BERNARD (J.)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)	CASTAIGNE (P.)
	BICÊTRE
	DEPARIS (M.)
	BROUSSAIS
	MILLIEZ (P.)
	COCHIN
	BROUET (G.)
Cliniques médicales	HÔTEL-DIEU
	BARIÉTY (M.)
	LARIBOISIÈRE
	SÈZE (S. de)
	PITIÉ
	DREYFUS (G.)
	SAINT-ANTOINE
	KOURILSKY (R.)
	SAINT-ANTOINE
	BOUDIN (G.)

Clinique d'hydrologie et de climatologie (Bichat)	DEBRAY (Ch.)
Clinique médicale infantile et pédiatrie sociale (Enfants-Malades)	MARIE (J.)
Clinique médicale propédeutique (Broussais)	JUSTIN-BESANÇON (L.)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition (Hôtel-Dieu)	DEROT (M.)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié)	DAVID (M.)
Clinique neurologique (Salpêtrière)	GARCIN (R.)
Cliniques obstétricales	Baudelocque Saint-Antoine
Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal)	LACOMME (M.)
Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu)	MERGER (R.)
— — (Cochin)	VARANGOT (J.)
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière)	OFFRET (G.)
Clinique de pédiatrie	BREGEAT (P.)
Clinique de pédiatrie et de puériculture (Saint-Vincent-de-Paul)	AUBRY (M.)
Clinique de pneumo-phthisiologie (Laennec)	MOZZICONACCI (P.)
Clinique de neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière)	THIEFFRY (S.)
Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)	BERNARD (E.)
Clinique stomatologique (Salpêtrière)	MICHAUX (L.)
Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard)	COSTE (F.)
Clinique thérapeutique médicale (Saint-Antoine)	DECHAUME (M.)
Clinique toxicologique	ROUX (M.)
Clinique traumatologique et orthopédique (R.-Poincaré)	LEMAIRE (A.)
Clinique urologique (Cochin)	GAULTIER (M.)
— — (Necker)	JUDET (R.)
Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau)	ABOULKER (P.)
Séméiologie médicale (A. Chantin)	COUVELAIRE (R.)
— — (Lariboisière)	LAPLANE (R.)
— — (Pitié)	DOMART (A.)
— — (Rothschild)	BOUVRAIN (Y.)
Séméiologie et clinique chirurgicales (Broussais)	RAMBERT (P.)
	WOLFROMM (R.)
	POILLEUX (F.)

b) Professeurs à titre personnel :

Hématologie	ANDRÉ (R.)
Hydrologie et climatologie	BOUSSER (J.)
Maladies infectieuses	GIBERTON (A.)
	BASTIN (R.)
	AZERAD (E.)
	BOUR (H.)
	CABROL (Ch.)
	GROSSIORD (A.)
Médecine	LAMBLING (A.)
	LAUNAY (Cl.)
	PAYET (M.)
	PERRAULT (M.)
	SIGUIER (F.)
	WORMS (R.)
Neuro-chirurgie	LE BEAU (J.)
Neurologie	LHERMITTE F.
Neuro-psychiatrie	PICHOT (P.)
Oto-Rhino-Laryngologie	MADURO (R.)
Pédiatrie	POLONOVSKI (Cl.)
	ROYER (P.)
Pneumo-Phtisiologie	KREIS (B.)
	MEYER (A.)
Rhumatologie	DELDARRE (P.)

II. — PROFESSEURS SANS CHAIRE

	MM.		MM.
Anatomie pathologique . . .	BOUYGOU (Ch.)	Hématologie	BILSKI-PASQUIER (B.)
Anesthésiologie	VOURC'H (G.)	Maladies infectieuses . . .	DUPONT (V.)
Bactériologie	CHRISTOL (D.)	Physique médicale	{ COURSAGET (J.) GREMY (F.)
Biochimie médicale	{ CARTIER (P.) GONNARD (P.)	Physiologie	GIRARD (Fr.)
Biologie médicale	HARTMANN (L.)	Stomatologie	CHAPUT (M ^{me} A.)
		Thérapeutique	CHASSAGNE (P.)

III. — PROFESSEURS DÉTACHÉS DANS LES UNIVERSITÉS ÉTRANGÈRES

Bactériologie	HAUDUROY (P.) Pr. s. ch
Pathologie chirurgicale	RUDLER (J.) Pr. s. ch.

IV. — PROFESSEUR ASSOCIÉ

Statistique médicale et épidémiologique . .	SCHWARTZ (D.)
---	---------------

Secrétaire général de la Faculté	M. LENA (J.)
Conseillers administratifs	Mlle CHAINTREUIL (G.) M. FAYE (R.)
Conservateur en Chef de la Bibliothèque . .	{ M. le Docteur HAHN (A.)
Conservateur du Musée d'Histoire de la Médecine	
Conservateurs	{ Miles DUMAITRE (P.), LAURENT (H.), LE NOIR (G.),
Bibliothécaires	{ Mmes CONTET (J.), FORGET (F.), Miles DUROZOY (M.-F.), ROBERGE (D.), Dr SCHILLER (J.)

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

HISTOIRE

DE

LA

THALASSEMIE

A MON PERE

Pour le soutien et l'encouragement affectueux
qu'il m'a toujours prodigués au cours de mes
études.

A MA MERE

Avec toute ma reconnaissance, pour son aide
et sa tendresse.

A MA SOEUR

A MA FAMILLE

A TOUS MES AMIS.

A Monsieur le Professeur Jean BERNARD

Professeur titulaire de la Chaire,
des malades du sang à la Faculté de Médecine de Paris.
Directeur de l'Institut de Recherches sur les leucémies
et les maladies du sang de l'Hôpital Saint-Louis.
Médecin des Hôpitaux de Paris.
Officier de la Légion d'Honneur.

Qui nous a fait le grand honneur d'accepter
la présidence de cette thèse.

Qu'il veuille bien trouver l'expression de
notre profond respect, et de notre vive gra-
titude.

A Monsieur le Professeur Georges SCHAPIRA

Professeur titulaire de la Chaire de Chimie Pathologique.

Sa mansuétude et son obligeance à notre
égard nous a toujours touché.

Qu'il trouve l'expression de notre res-
pectueuse reconnaissance et de notre pro-
fonde admiration.

A Monsieur le Docteur ALAJOUANINE

Chef du Service de Pédiatrie de l'Hôpital Intercommunal
de Créteil.

Dans le Service duquel nous avons pu
recueillir les observations qui nous ont
orienté vers ce travail.

Avec nos sentiments de gratitude.

A NOS MAITRES

DE LA FACULTE DE MEDECINE,
DES HOPITAUX,
DE LA FACULTE DES SCIENCES,
DE PARIS.

- Le Professeur J. POLONOWSKI
- Le Professeur M.F. JAYLE
- Le Professeur P. DESGREZ
- Le Professeur Agrégé J.C. LEGRAND
- Le Professeur A. DJOURNO
- Le Professeur H. DESGREZ
- Le Professeur M. TUBIANA
- Le Professeur Agrégé J. CANIVET
- Le Professeur Agrégé J. SALLET
- Melle le Professeur E. LE BRETON
- Le Professeur J. MONOD
- Le Docteur F. OURY
- Le Docteur A. DUFOUR

- A M. J. LENA

Secrétaire Général de la Faculté de Médecine.

Auprès de qui nous avons toujours trouvé
l'accueil le plus aimable et les conseils
les plus éclairés.

A Monsieur le Docteur SIMMONS Vaughans

du Collège de Médecine de PHILADELPHIE (U.S.A.)

Pour l'ample documentation qu'il a bien
voulu nous communiquer.

A mon Oncle, et ma Tante JOHN PICANO

de Philadelphie.

Pour l'aide précieuse qu'ils nous ont
apportée par la recherche et l'envoi de
documents qui ont été utiles à la réalisation de ce travail.

AVANT-PROPOS

Le domaine de la Thalassémie présente une étendue très vaste.

De multiples travaux y ont été consacrés et ils le seront encore dans l'avenir, en raison de la fréquence du gène.

En outre, les données modernes concernant le contrôle moléculaire de la synthèse de l'hémoglobine méritent d'être connues en raison de l'immense progrès qui a été réalisé en cette matière, et grâce auquel la Thalassémie doit l'important regain d'intérêt qu'on lui porte à présent.

C'est pour clarifier le texte, que nous avons adopté le plan suivant :

CHAPITRE I - Aperçu historique sur les hémoglobines anormales.

Nous mentionnons les résultats des enquêtes génétiques et des travaux scientifiques qui ont permis le classement des hémoglobinoses en différentes variétés, actuellement bien précises.

CHAPITRE II - Histoire clinique de la Thalassémie.

- Nous reproduisons d'abord la communication initiale de COOLEY (1925) et les étapes historiques qui ont abouti à la reconnaissance de différentes formes cliniques.

- Les caractères cliniques, hématologiques, biochimiques et génétiques des formes majeures, mineures et minimes, sont ensuite décrits.

- La répartition géographique est développée. Elle nous fournit la preuve de foyers ectopiques paradoxaux.

- Nous étudions successivement les associations de la bêta Thalassémie et des hémoglobinoses bêta, et nous en donnons une conclusion générale.

- Nous consacrons quelques pages à la persistance héréditaire de l'hémoglobine foetale, et à l'hémoglobine Lepore qui est une clef dans l'abord de mécanismes génétiques, jusqu'alors insoupçonnés.

- L'alpha Thalassémie est abordée, ainsi que ses rapports avec les différentes autres hémoglobinopathies, et en particulier avec l'hémoglobinopathie H.

CHAPITRE III - Mécanisme d'action du gène thalassémique.

Quelques pages sont d'abord destinées à la biosynthèse normale de la molécule d'hémoglobine.

Les études modernes expérimentales, mettant en évidence des troubles de la synthèse de la globine et ses rapports avec ceux de la synthèse de l'hème, sont brièvement décrites.

Les différentes théories, qui proposent des modèles génétiques simples pour expliquer le mécanisme d'action du gène, sont relatées et, en particulier, celles qui utilisent "l'opéron".

Un aperçu des études biologiques de l'hémoglobine thalassémique est ensuite proposé avec, à la suite, les différentes techniques d'électrophorèse qui permettent d'obtenir des résultats plus précis.

Enfin, nous donnons quelques perspectives modernes d'études de cette maladie.

CHAPITRE IV - Observations personnelles.

Nous présentons un tableau, et un bref commentaire de quelques cas cliniques personnels, qui illustrent quelques données citées précédemment.

BIBLIOGRAPHIE :

La bibliographie, de 300 références environ, toujours incomplète en raison du grand nombre de travaux, a été classée en plusieurs chapitres qui semblent assez homogènes, et, les auteurs y sont donnés en fonction de l'année de leur publication, ceci, dans le but de mieux permettre de jalonner les étapes historiques qui marquent les progrès dans la connaissance de la Thalassémie.

INTRODUCTION

Le sujet de notre thèse nous a été fourni par Monsieur le Professeur Jean BERNARD. Il a bien voulu nous donner le schéma d'un plan que nous nous sommes efforcés de suivre dans ses grandes lignes.

Comme l'écrivent ASTALDI, TOLENTINO et SACCHETTI (1951) dans leur remarquable travail très documenté, la Thalassémie est une maladie qui appartient à l'Antiquité. Ils rappellent les observations anthropologiques de GRAZIOSI (1943) en Sicile, reprises plus récemment par GATTO (1947) concernant des sujets de l'époque paléolithique, présentant des lésions d'ostéopore du type de celles qui sont propres à la maladie de COOLEY, avec des caractéristiques ostéologiques similaires. Il faut arriver au siècle actuel pour poser le diagnostic de Thalassémie. Jusqu'alors, on avait décrit à tort des tableaux cliniques sous le terme "d'anémie splénique infantile" par CARDARELLI, SOMMA et FEDE (1882) ou "d'anémie pseudo-leucémique des enfants" (Von JASCK, LUZET et HAYEM 1889), où apparaissent un aspect mongoloïde familial chez les enfants atteints, relevant très probablement de la Thalassémie majeure ou maladie de COOLEY.

Ce n'est qu'en 1925, que COOLEY, pour la première fois, décrit le caractère familial, les lésions osseuses et les caractéristiques hémato-logiques fondamentales qui résument la Thalassémie, telle que nous la connaissons cliniquement actuellement.

Nous rapportons la traduction des premiers cas de COOLEY, qui paradoxalement, a étudié ces cas en Amérique, chez des émigrés italiens, bien

loin des pays de leur origine où la fréquence du gène pathologique atteint dans certaines contrées le taux incroyable de 30 %.

Au début, on admettait que cette maladie était limitée aux pays bordant la Méditerranée. Elle en tire d'ailleurs son nom (thalassa = mer). Mais au fur et à mesure que les recherches scientifiques avançaient, elle apparaissait - dans des pays que l'on supposait exempts de cette affection.

Cela nous a amené à faire un chapitre sur la répartition géographique de la Thalassémie dans le monde.

La Thalassémie est en effet une maladie héréditaire, qui à l'état hétérozygote se manifeste comme une thalassémie mineure bénigne et dans son état homozygote, sous l'aspect d'une thalassémie majeure bien plus grave. Les nombreuses formes intermédiaires entre les deux états sont généralement supposées comme représentant des degrés variables de l'expressivité génique. On distingue cependant :

- La Thalassémie majeure, habituellement associée à une anémie sévère réfractaire, une fièvre périodique, de la splénomégalie, de l'hépatomégalie et la mort à un jeune âge.

- La Thalassémie mineure, associée à une microcytose, de l'hypochromie et d'une anémie légère modérée à une résistance osmotique augmentée.

- La Thalassémie minime, caractérisée uniquement par des anomalies hématologiques parfois même trompeuses telles les polyglobulies hypochromes.

Mais, nos connaissances sur la maladie ne se sont considérablement développées qu'à la suite de la découverte de PAULING en 1949, sur le comportement électrophorétique de l'hémoglobine drépanocytaire, qui ouvrait le nouveau chapitre des maladies moléculaires.

A P E R C U
H I S T O R I Q U E
S U R L A B I O C H I M I E D E S
H E M O G L O B I N E S A N O R M A L E S

STRUCTURE DE L'HEMOGLOBINE

Nous ne ferons ici qu'un bref rappel sur la structure de l'hémoglobine pour ne pas passer sous silence les grands progrès qui ont été effectués ces dernières années dans la connaissance de cette molécule.

L'hémoglobine adulte normale est constituée de trois parties : l'hème, la globine et le fer.

L'hème est un cycle tétrapyrrolique appelé la protoporphirine renfermant un atome de fer. L'hème est plan.

Le fer est à l'état de fer ferreux ++ ; il est hexacoordiné ; il reçoit deux doublets électroniques de deux azotes pyrroliques et deux doublets de deux azotes qui font partie de radicaux histidine de la globine.

La globine, dont le poids moléculaire mesuré par les méthodes physiques modernes et de 64.000, est formée de quatre sous unités, 2 chaînes α et deux chaînes β . La séquence des chaînes est spécifique de l'espèce.

Dans une molécule d'hémoglobine on distingue quatre hèmes et une molécule de globine avec ses quatre sous-unités polypeptidiques.

Chaque chaîne polypeptidique sous-unité décrit de nombreuses spires ; l'une d'elle retient un hème.

Il existe entre les quatre chaînes des liaisons inter-chaînes dues, en particulier, à des ponts disulfures.

L'hème est fixé à la chaîne par les liaisons déjà vues entre le fer et deux radicaux histidine.

En effet, le fer n'est pas lié de la même manière aux deux histidines de la chaîne correspondante.

Une des histidines est dite proximale, car elle est proche du fer et se lie avec ce dernier d'une façon très stable (histidine n°92 pour la chaîne β , histidine n°87 pour la chaîne α).

L'autre histidine (n°63 dans la chaîne β , n°58 dans la chaîne α) est à distance suffisante du fer, et sa liaison avec lui est assez fragile pour permettre à l'oxygène de venir se placer entre elle et le fer et de former, en se substituant à elle, liaison avec ce dernier. Cette histidine est dite distale.

On connaît, en effet, dans les méthémoglobinémies, une substitution au niveau de l'histidine distale par la tyrosine ; l'oxygène du radical hydroxyle de cette dernière forme une liaison stable avec le fer et empêche l'oxygène de s'y placer (Hb M Boston : α 58 tyrosine et Hb M Saskatoon : β 63 tyrosine).

Cette liaison de l'histidine distale peut être, même, perturbée, en cas de mutation d'un acide aminé voisin à groupement polaire : Hb M Milwaukee où l'acide glutamique remplace la valine n°67 dans la chaîne β . Ce dernier cas s'explique par le fait que le nouveau groupement carboxylique libre de l'acide glutamique 67 a une charge inverse de celle du fer ++.

Par contre, la substitution de la valine 59 de la chaîne α par l'arginine dans l'Hb Zurich ne perturbe pas la liaison Fer-hist 58, car le groupement polaire de l'arg. a une charge de même signe que le fer.

La substitution de l'histidine proximale a été rencontrée dans une méthémoglobinémie, telle l'Hb M Iwato où l'histidine 87 est remplacée par une tyrosine. La cyanose observée ne peut s'expliquer que si l'on suppose la permutation de deux histidines proximales et distales.

Les hémoglobines autres que l'Hb A sont toujours des tétramères, ~~mais~~ différent de l'Hb A par la nature des chaînes.

Les études modernes nous ont apporté sur le plan biochimique la connaissance des séquences des acides aminés des chaînes alpha, bêta, gamma et delta.

La teneur en fer de l'hémoglobine est de 0,35 %.

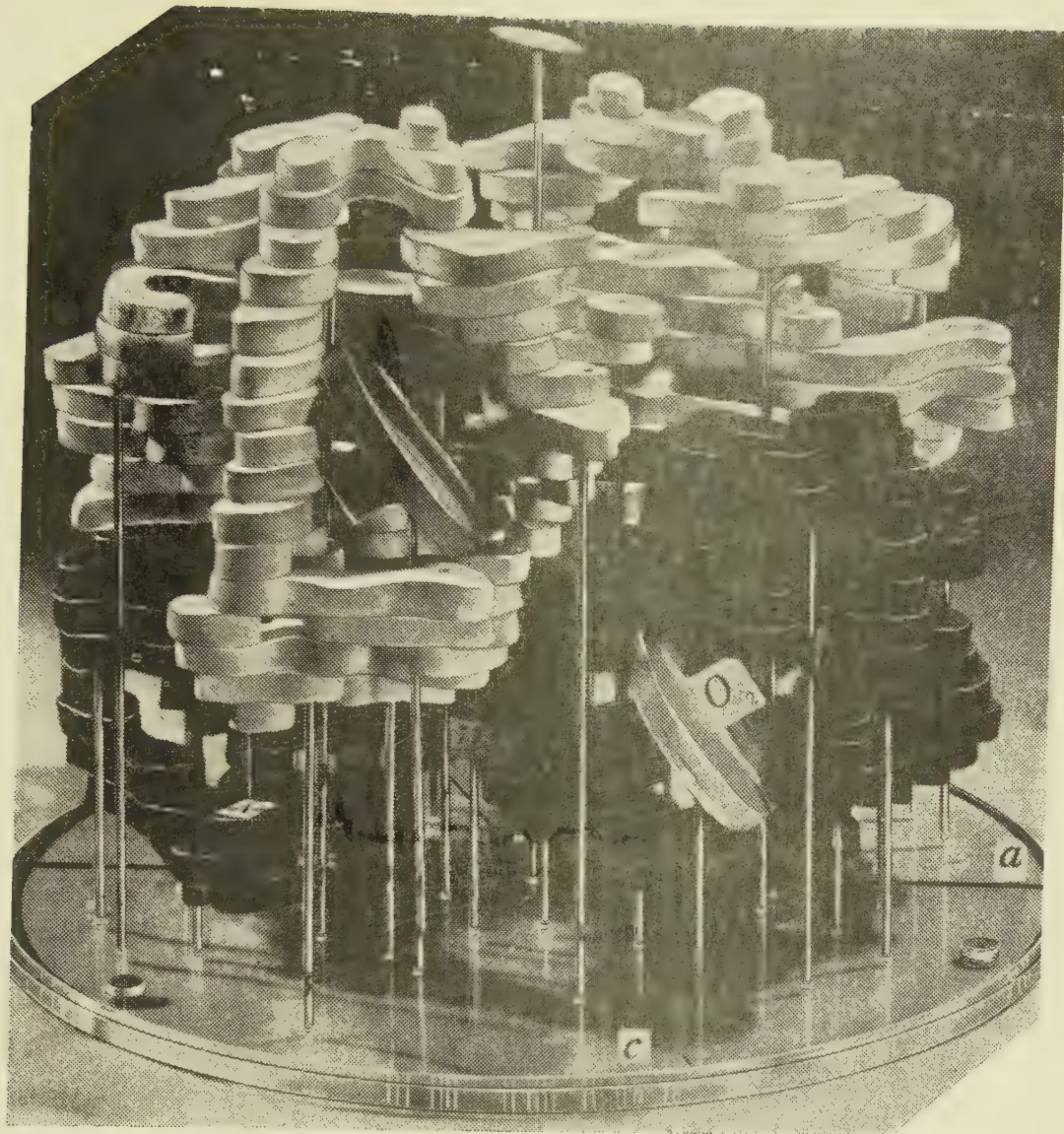
Sur le plan physique les études modernes de diagramme de diffraction aux rayons X effectuées par PERUTZ, nous ont donné une image précise de la forme de la molécule dans l'espace avec un pouvoir résolutif de deux Angströms. La longueur de la molécule est de 64 angströms, sa largeur de 55 angströms et sa hauteur de 50 angströms.

La résonnance magnétique électronique nous renseigne sur la structure du fer lors de ses combinaisons avec l'oxygène, l'oxyde de carbone ; les mesures magnétiques nous ont montré, on le sait, le paramagnétisme de la méthémoglobine.

La fixation de l'oxygène nécessite un fer bivalent.

Cette fraction est freinée par l'interaction des quatre hèmes (effet Bohr), les chaînes alpha et bêta jouent un rôle dans cette fixation en modifiant leur distance relative (les chaînes β s'écartent, les chaînes α se rapprochent).

Les hémoglobines qui diffèrent de l'Hb A adulte par la nature des chaînes présentent des courbes de fixation de l'oxygène différentes qu'elle.



Structure de la molécule d'hémoglobine dans l'espace,
d'après PERUTZ.
(les deux disques plans représentent l'hème, la position
de l'oxygène est indiquée par la lettre O).

LA STRUCTURE DES DIFFERENTES HEMOGLOBINES

La constitution de l'hémoglobine A, énoncée par Pauling peut se résumer par la formule $\alpha_2 \beta_2$

La structure a été précisée PERRUTZ (1960) (prix Nobel) par cristallographie qui a montré que l'hémoglobine avait la forme d'un ELLIPSOÏDE.

L'étude séquentielle de la chaîne α a été étudiée par Konigsberg, Guidotti et Hill en 1961, et publiée plus récemment par Goldstein, Hill en 1963.

La chaîne α est constituée de 141 acides aminés dont la séquence s'écrit :

valyl - leucyl - serine arginine - tyr - lys
(N-term) (C-term)

et la chaîne β est formée de 146 acides aminés.

Val. - leu. - Hist. hist-tyr-lys-
(N-term)

Pas d'isoleucine dans l'hémoglobine anormale.

RHINESMUTH, PAULING et SCHROEDER donnèrent en 1957 la séquence complète de la structure dans l'espace qui comporte huit portions hélicoïdales de A et H séparées par des séquences linéaires. La boucle EF est le lieu de fixation de l'hème aux deux sites histidines 63 et hist. 92. (voir schéma)

Les chaînes α et β possèdent en commun 61 acides aminés.

Certaines portions hélicoïdales sont plus longues, d'autres plus courtes.

Par chromatographie, sur colonne Amberlite IRC 50, on trouvait deux fractions au moins d'hémoglobine A, dont une avait une extrémité N terminale protégée par un groupement chimique non acétylé.

HEMOGLOBINE A₂ : étudiée chimiquement par INGRAM et STRETTON (1961), est composée d'une paire de chaînes α et d'une paire de chaînes δ , différente de β par huit acides aminés seulement. (STRETTON et INGRAM 1962)

Sa formule est $\alpha_2 \delta_2$.

A l'électrophorèse, elle migre moins vite que l'hémoglobine A à pH 8,5, sur papier amidon et en gel d'amidon. Chez le sujet normal son taux est de 1 à 3 % de l'hémoglobine total. La séquence de la chaîne δ est actuellement connue.

HEMOGLOBINE A₃ : KUNKEL et WALLEMUIR (1955), dérivée de l'hémoglobine A, par la présence d'une liaison indéterminée avec le glutathion.

Elle est considérée comme une forme de vieillissement de l'Hb A.

HEMOGLOBINE FOETALE : Cette fraction représente environ 80 % du total de l'hémoglobine dans le sang du cordon à la naissance, décroît très rapidement durant les premiers mois, et chez l'adulte son taux ne dépasse pas 2 %.

Sa constitution est représentée par la formule $\alpha_2 \gamma_2$.

Les chaînes β sont remplacées par des chaînes γ qui diffèrent par 17 amino-acides et par 39 différences de séquences.

La séquence de la chaîne γ fut donnée par SCHROEDER, JONES et SHELTON en 1962. Cette chaîne se distingue des autres par la présence de résidus d'isoleucine.

Elle est caractérisée par des différences de comportement électrophorétique en gélose acide et surtout par une résistance particulière à la dénaturation alcaline et aussi par son spectre ultra-violet.

La chromatographie sur colonne a montré la présence de deux constituants F_1 et F_2 (ALLEN et SCHROEDER 1958), le constituant F_1 a un N-terminal acétylé.

WEATHERALL a trouvé, dans certains troubles divers de l'hémoglobino-génèse, chez l'adulte, des taux d'Hb foetale élevés.

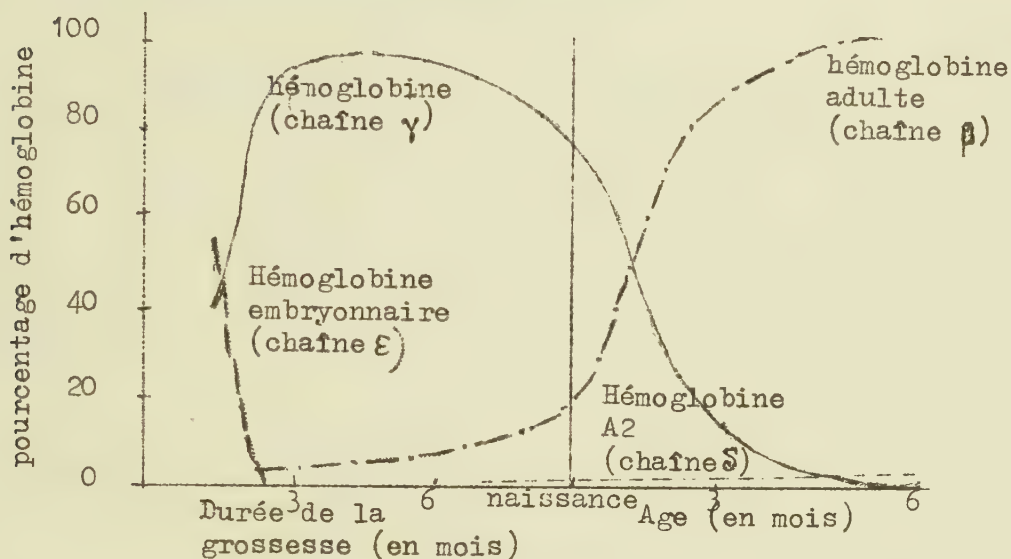


Schéma représentant l'évolution des différentes fractions hémoglobiniques, lors du passage de la vie foetale à la vie extra-utérine. (d'après Huehns et Shooter, 1965).

On voit sur le schéma que le taux d'hémoglobine foetale est avant la naissance de 90 % ; à la naissance, il est de 80 % ; à deux mois de 50 %, à 5 mois de 10 % et chez l'adulte moins de 2 %.

- Sa principale propriété est d'être alcalino-résistante, alors que l'Hb A se dénature en une minute, l'Hb F se dénature entre deux et trois heures.

- Elle possède moins d'affinité pour l'oxygène que Hb A.

Certains auteurs ont pensé qu'il existait une hémoglobine embryonnaire commune à ces deux variétés dont l'étude est rendue difficile car l'existence en est limitée aux trois premières semaines de la vie foetale. Elle serait produite par le feuillet mésoblastique du sac vitellin. BUTTLER

(1960) a montré qu'on pouvait en distinguer deux fractions différentes : l'hémoglobine GOWERS 1 et l'hémoglobine GOWERS 2. L'Hb GOWERS 2 a la constitution $\alpha_2\epsilon_2$ d'après MOTULSKY (1964) et Hb GOWERS 1 n'aurait qu'une seule sorte de chaîne ϵ_4 .

La génétique des différentes hémoglobines

C'est la drépanocytose qui a permis à la Science de franchir les premières étapes dans la connaissance de l'hémoglobino-génèse.

La première description de cette affection fut faite en 1910 par HERRICK, sur des noirs américains. Cet auteur distingua, le premier, la déformation des hématies en faucilles, (SICKLE-CELLS 1910), dans ce syndrome, caractérisé jusqu'alors par une symptomatologie clinique.

La forme des hématies est à l'origine du terme sicklanémie, donné à la maladie et de la lettre S donnée à l'hémoglobine correspondante.

En 1927, HAHN et GILLERPIE mirent en évidence le rapport entre la falciformation et la baisse de la tension d'oxygène.

Ce n'est qu'en 1949, soit 39 ans plus tard, que PAULING, ITANO, SINGER, utilisant l'électrophorèse libre de TISELIUS, mirent en évidence dans la drépanocytose, une hémoglobine anormale, plus lente que l'hémoglobine adulte.

Chez les malades atteints de formes sévères de cette affection, ils ne trouvaient que de l'hémoglobine S, et chez les sujets atteints de formes plus atténuées, ils trouvaient cette hémoglobine associée à l'hémoglobine A, et en quantité moindre.

NEEL (1940) remarquait l'association d'anomalies de la forme des hématies, et de l'hémoglobine anormale chez les mêmes malades ; par des enquêtes génétiques, il prouvait que le caractère drépanocytaire correspondait à un gène mutant allèle du gène normal.

C'est donc, le travail de PAULING qui fit, grâce à l'application de l'électrophorèse, apparaître le concept de "maladie moléculaire" et réaliser une étape capitale dans la connaissance des hémoglobinoses.

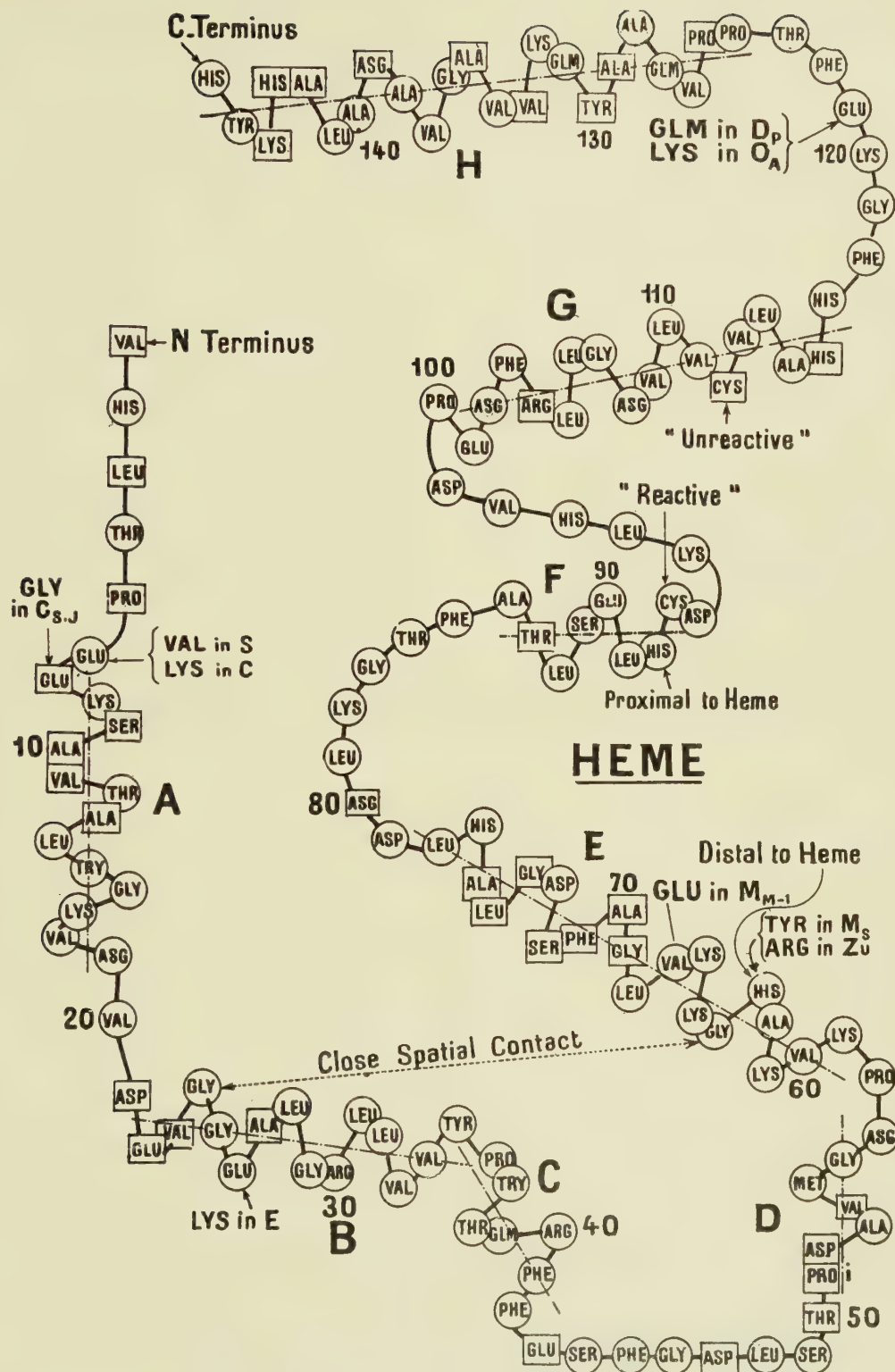


Fig. 4

Représentation schématique de la structure spatiale de la chaîne β de l'hémoglobine A (suivant SCHROEDER, *Ann. Rev. Biochem.*, 32, 301, 1963. Annual Reviews, Inc. Palo Alto, California, U.S.A.).

En 1950, ZUELZER et KAPLAN découvraient l'hémoglobine C.

En 1954 RANNEY étudiait des malades atteints des hémoglobinoses C et S, à la fois.

Il constatait que ces sujets ne possédaient pas du tout d'Hb A et qu'ils ne transmettaient à leur descendance, que l'un ou l'autre des deux caractères, mais jamais les deux à la fois.

Ces résultats prouvaient que le gène S est un allèle du gène C.

Puis furent découvertes d'autres hémoglobines : D, ITANO (1951), E. (1954), G. (1954), et etc

Le congrès de BOSTON de 1953 adopta une nomenclature simple des différentes hémoglobines, auxquelles on attribua une lettre de l'alphabet répondant à l'ordre de la découverte, et souvent, en complément de la lettre, le nom de l'origine géographique.

A noter cependant, le cas particulier de l'hémoglobine drépanocytaire, qui s'appelle aussi hémoglobine B, mais on retient couramment la dénomination initiale de PAULING : Hb S.

Au Congrès International d'Hématologie de TOKYO (1960), on est arrivé à la lettre Q, ce qui fait 17 types d'Hb connues.

Ainsi, à la suite des intéressants travaux de NEEL, on pouvait appliquer les lois de la génétique à l'hémoglobine.

On pouvait, alors, en déduire :

1 - le caractère mendélien des gènes de la synthèse de l'hémoglobine.

2 - l'existence de gènes allèles (S, C et D), en effet, nous avons vu que les sujets doublement atteints ne possèdent pas d'Hb A, et leur descendance répond au principe d'exclusion réciproque.

En 1957, RHINESMITH et PAULING montrèrent que l'hémoglobine A était constituée de deux paires identiques de chaînes polypeptidiques, appelées chaînes alpha, et d'une autre paire de chaînes polypeptidiques, appelée chaîne bêta, à l'inverse des résultats.

En 1958, SMITH et TORTBERT isolent une famille, dans laquelle des sujets étaient atteints des deux hémoglobines à la fois, mais qui possédaient en plus des deux hémoglobines anormales de fortes quantités d'Hb A. Ces résultats sont inverses de ceux trouvés par RANNEY, au sujet de malades atteints, à la fois d'hémoglobinoses C et S.

De plus, les sujets doublement atteints de cette famille donnaient naissance à des enfants, soit doublement atteints, soit normaux, soit porteurs d'une seule hémoglobinoase.

Le fait que ces sujets possèdent de l'hémoglobine S, de l'hémoglobine Hop et de l'hémoglobine A, prouve que les deux gènes S et HOPKINS ne sont pas situés sur le même chromosome ; de plus leur descendance montre que ces gènes ne sont pas allèles.

Toujours en 1958, INGRAM et Coll. réalisent la digestion trypsique des hémoglobines S et A, et après celle-ci (l'enzyme scindant la molécule en 28 peptides au niveau d'acides aminés basiques : lysine et arginine) font une électrophorèse sur papier dans un sens, et chromatographie dans le sens perpendiculaire technique appelée "fingerprint" de la molécule. Ils s'aperçoivent que l'Hb A et l'Hb S ne diffèrent que par une tache : le peptide 4 qui correspond aux huit premiers acides aminés. L'étude de la séquence de ce peptide montre une différence d'un seul acide aminé, l'acide glutamique remplacé par la valine numéro 6.

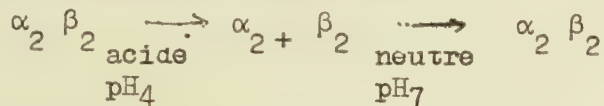
Ce fait prouvait donc dans l'Hb S l'existence d'une mutation d'un seul acide aminé, et, si l'on se souvient que la valine possède un rôle hydrophobe, alors, que l'acide glutamique possède lui un pôle hydrophile, on réalise la différence des propriétés physico-chimiques, et, surtout la tendance de Hb S à précipiter dans les vaisseaux, ce qui pourrait expliquer la pathogénie des thromboses de la maladie.

En outre, s'expliquait ainsi la falciformation des hématies augmentée in vitro par l'anoxie, utilisée en pratique courante (test de Emel 1917) ou par l'adjonction de substances réductrices (métabisulfite de soude).

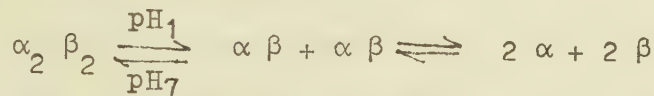
ETUDE DE DISSOCIATION-REASSOCIATION

ITANO, en 1959, arrivait à dissocier à pH faible, l'hémoglobine A en différentes subunités, de la manière suivante :

soit dissociation asymétrique



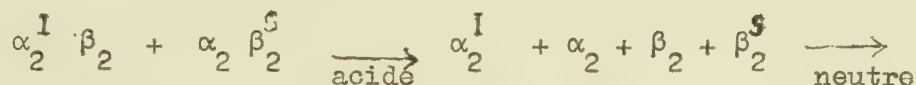
soit dissociation symétrique



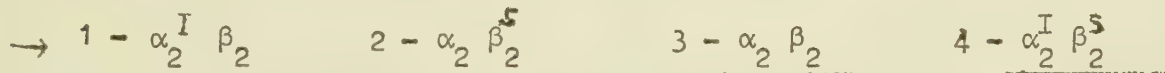
et ITANO arrivait ainsi en mélangeant différentes hémoglobines à chaînes anormales, en les mettant en milieu acide, et en les réassociant en milieu neutre, à obtenir de nouvelles hémoglobines hybrides, différentes de celles dont il partait.

Ainsi, en mélangeant de l'Hb I et de l'Hb S et suivant son procédé, il obtenait de l'hémoglobine normale, et une hémoglobine à 2 chaînes anormales.

Ceci ne peut s'expliquer que si ces deux hémoglobines diffèrent par une chaîne différente : Hb S + Hb I.



et par réunion au hasard il obtenait quatre hémoglobines en proportions égales que l'électrophorèse séparait :



Ces études suggéraient à ITANO l'existence de gènes différents, commandant la synthèse des chaînes α et β ; les chaînes synthétisées se dimérisent et les dimères, de nature différente, s'unissent pour former la molécule d'hémoglobine.

Les données cliniques venaient ensuite compléter ces données expérimentales.

Les sujets doublement porteurs d'Hb S et d'Hb Hop₂ décrits dans la famille de SMITH et TORBERT, possédaient de l'hémoglobine A.

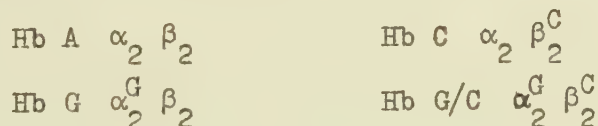
A l'électrophorèse, on observait chez eux trois pics : un pic principal d'Hb A et deux petits pics des deux côtés de ce dernier correspondants à Hb S et Hb Hop₂.

Parallèlement, le mélange "in vitro" d'Hb Hop₂ $\alpha_2^{\text{Hop}} \beta_2$ et $\alpha_2 \beta_2^{\text{S}}$ donnait la même allure électrophorétique que l'hémolysat du sang de ces malades.

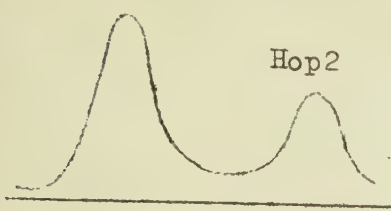
Cette donnée expérimentale en concordance avec les résultats cliniques précédents démontrait l'existence de quatre gènes : α , α^{Hop_2} , β et β^{S} chez les malades et l'absence d'allélisme entre les gènes α^{Hop_2} et β^{S} , car l'Hb A était présente.

Les résultats de l'électrophorèse s'expliquent bien car Hb S a deux charges positives de plus que Hb A et Hb Hop₂ a deux charges négatives de moins que Hb A. Ainsi, la nouvelle molécule $\alpha_2^{\text{Hop}} \beta_2^{\text{S}}$ a la même charge que Hb A et n'apparaît pas seule à l'électrophorèse, mais elle s'ajoute au pic d'Hb A, donnant un pic de surface double des autres.

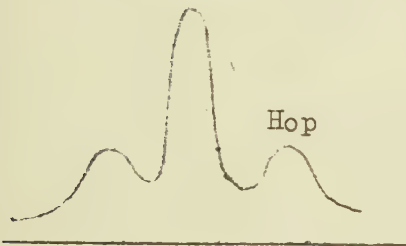
Dans un autre exemple, sept doubles hétérozygotes G α (Philadelphia) et C possédaient les quatre variétés d'hémoglobine, selon l'électrophorèse (ATWATER, SCHWARTZ et TOCANTINO 1960).



Electrophorèse

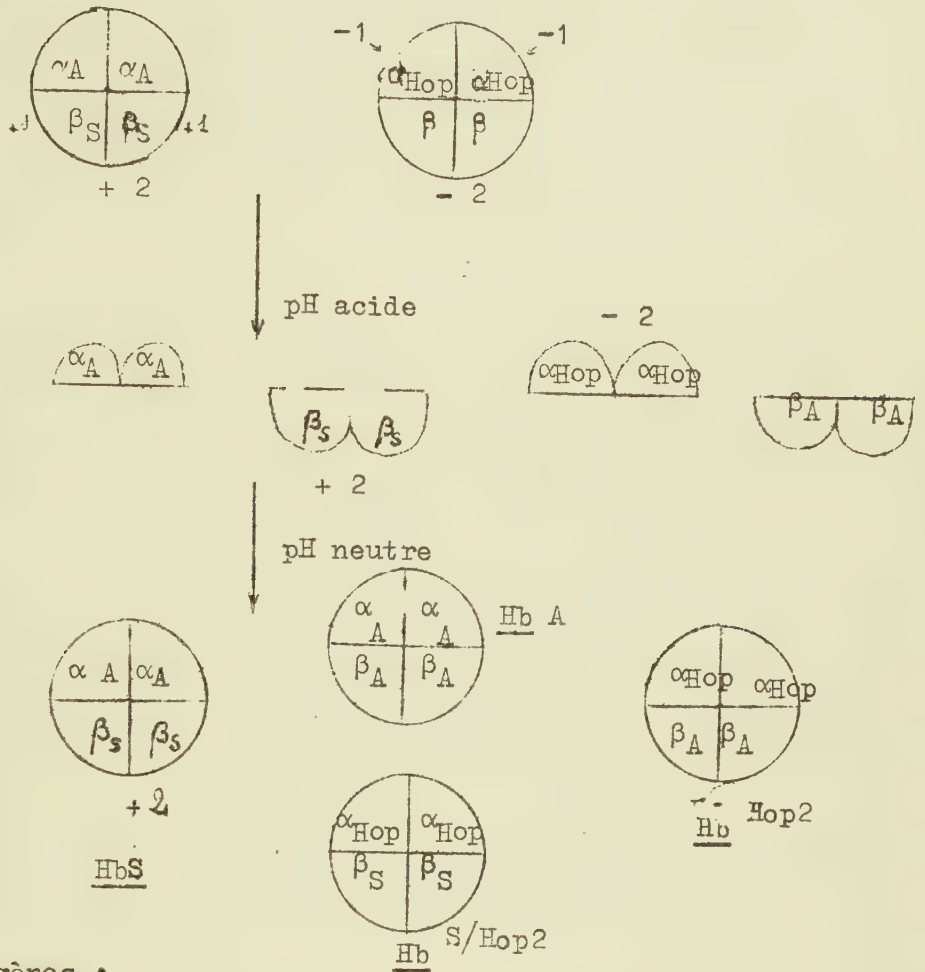


A+S/Hop



MELANGE HbS - Hb Hop2

INTERPRETATION



Individualisation des gènes :

1 - Le gène β

Le principe d'exclusion des gènes allèles dans les gamètes faisant que chez certains sujets doublement atteints d'hémoglobinoïse, on ne trouve pas du tout d'hémoglobine A normale, prouve que les gènes correspondants sont situés sur le même chromosome, et qu'elles affectent le même gène ; les mutations correspondantes entraînent le changement des deux acides aminés en deux points donnés de la même chaîne polypeptidique.

Exemples : Hb S et Hb C, Hb S et Hb D

ici la mutation touche le même acide aminé de la chaîne β .

2 - gène α et gène β

Il existe des cas où les sujets doublement atteints et possèdent de l'hémoglobine A normale, il ne peut s'agir ici que de mutations qui ne touchent pas le même chromosome : exemple Hb S et Hb I ou Hb S et Hb Hopkins ² qui comportent des mutations d'acides aminés respectivement sur la chaîne α et sur la chaîne β .

3 - Le gène α

D'autre part, d'autres sujets doublement affectés, par exemple Hb Hopkins et Hb I ne possèdent pas du tout d'hémoglobine A, dans ce cas, les gènes mutés sont des allèles, touchant le même chromosome, lequel est différent de celui portant le gène Hb S, et la mutation porte sur la chaîne α .

Donc, deux chromosomes différents étaient mis en cause. On prouvait donc que deux gènes de deux chromosomes différents commandaient respectivement la synthèse des deux chaînes α et β . Chaque hémoglobine est conditionnée par deux paires de gènes. Ainsi la notion génétique classique : 1 gène $\rightarrow$ une protéine devenait donc 1 gène $\longrightarrow$ 1 chaîne polypeptique.

Nous voyons qu'au point de vue génétique, il se produit le même phénomène que le mélange au hasard effectué par ITANO in vitro.

4 - Gène α et gène δ

HUEHNS et SCHOOTER 1961 ont étudié des homozygotes pour l'hémoglobine G α . Ceux-ci ne possèdent pas d'Hb A₂, par contre il y a chez eux une hémoglobine G₂ de structure $\alpha_2^G \delta_2$. Ce fait démontre que les dimères α_2^G s'unissent aux dimères δ_2 produits par un autre gène δ .

Des hétérozygotes pour G α ont eux, les deux formes d'Hb A₂ : l'Hb A₂ normale $\alpha_2 \delta_2$ et l'Hb A₂ anormale $\alpha_2^G \delta_2$ (BOYER 1961).

L'association des chaînes α anormales et des chaînes δ a été démontrée, en outre, "in-vitro".

5 - Gène α et gène γ

a - Un enfant qui avait reçu d'un de ses parents le gène α D St.Louis possédait à l'électrophorèse, en certain type d'hémoglobine un peu

différente de l'Hb F et de formule $\alpha_2^D \gamma_1$ en plus de l'Hb F normale. La combinaison de α_2^D et γ_2 a été prouvée "in vitro" (WEATHERALL et BOYER 1962).

b - Le sang du cordon ombilical d'un enfant qui avait hérité d'un gène $G\alpha$ contenait après "fingerprint" des fractions d'hémoglobine :

Hb F de structure $\alpha_2 \gamma_2$
Hb G_F $\alpha_2^G \gamma_2$
Hb G $\alpha_2^G \beta_2$
Hb A $\alpha_2 \beta_2$

Cet enfant avait donc deux variétés d'hémoglobine foetale (les deux premières).

De ces observations on peut conclure qu'il existe un gène γ différent du gène α et l'enfant en question est donc un hétérozygote pour le gène $G\alpha$.

Chez le foetus, ce sont donc les dimères α_2 , qui s'unissent aux dimères γ_2 et chez l'adulte, elles s'unissent aux dimères β_2 .

D'autres arguments ont permis de penser qu'il existait deux gènes distincts commandant respectivement la synthèse des chaînes δ et γ .

Ainsi : chez les adultes dont la tare touchait les chaînes α (exemple Hb G), on observait non seulement une hémoglobine A anormale $\alpha_2^G \beta_2$ mais aussi une hémoglobine A2 $\alpha_2^G \delta_2$.

L'observation faite en 1962 par MINNICH, CORDONNIER et MOORE portant sur un enfant porteur d'un gène anormal α_D révélait l'existence d'une Hb F anormale de formule $\alpha_2^D \gamma_2$, et prouvait bien le mécanisme de synthèse indépendante des chaînes α et γ , que l'on pouvait réformer après dissociation in-vitro.

En conclusion : la synthèse de l'Hb est sous le contrôle des gènes α , β , δ , et probablement γ et Σ . Les chaînes α se dimèrent et se combinent chez le foetus et l'enfant aux dimères γ_2 , et plus tard, aux dimères β_2 et

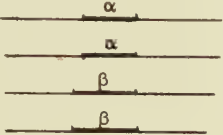
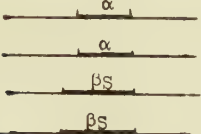
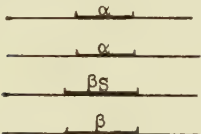
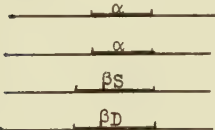
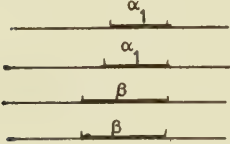
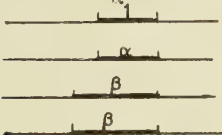
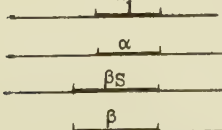
La production finale d'un gène de structure semble être un dimère ; le secret de cette dimérisation restant pratiquement inexpliqué, de même que l'assemblage des unités dimères.

Une mutation portant sur les deux gènes β n'affecte en aucune manière la synthèse des Hb A₂ et Hb F, dont la structure reste strictement normale.

Pour terminer, rappelons la similitude de structure des différentes chaînes. Les chaînes β , γ , et δ présentent de très nombreux acides aminés en commun et des séquences parfois assez longues identiques. Il arrive que les numéros des acides aminés de ces séquences semblables, ne soient pas toujours les mêmes. En d'autres termes, entre deux séquences communes, le nombre des acides aminés peut ne pas être le même dans les chaînes comparées. BAGLIONI (1963) en a donné un schéma très suggestif. Il semble que ce soient les "boucles" qui soient le siège des segments dissemblables se trouvant entre les séquences communes.

ooOoo

TABLEAU RESUMANT LA GENETIQUE DES DIFFERENTS TYPES D'HEMOGLOBINOSES

GENOTYPE	Hémoglobines synthétisées correspondantes
a) - Sujet normal diploïde Chromosomes portant les gènes 	Hémoglobine produite : $\alpha_2 \beta_2 : \text{Hb A}$
b) - Sujet atteint de drépanocytose homozygote 	Hémoglobine produite : $\alpha_2 \beta_2^S : \text{Hb S}$
c) - Sujet atteint de drépanocytose hétérozygote 	Hémoglobines produites : $\alpha_2 \beta_2 : \text{hémoglobine A}$ $\alpha_2 \beta_2^S : \text{hémoglobine S}$
d) - Sujet doublement atteint d'Hb S et Hb D (né de parents hétérozygotes) 	Hémoglobines produites : pas d'hémoglobine normale $\alpha_2 \beta_2^S : \text{Hb S}$ $\alpha_2 \beta_2^D : \text{Hb D}$
e) - Sujet atteint d'Hb I homozygote 	Hémoglobines produites : $\alpha_2^I \beta_2 : \text{Hb I}$
f) - Sujet atteint d'Hb I hétérozygote 	Hémoglobines produites : $\alpha_2^I \beta_2 : \text{Hb I}$ $\alpha_2 \beta_2 : \text{Hb A}$
g) - Sujet atteint de Hb I et Hb S (né de parents hétérozygotes) 	Hémoglobines produites : $\alpha_2^I \beta_2 \quad \alpha_2 \beta_2$ et $\alpha_2 \beta_2^S \quad \alpha_2^I \beta_2^S$

Rappel de notions génétiques :

- Cistrons : Le gène β et le gène δ sont appelés cistrons car ils commandent chacun la synthèse d'une chaîne hémoglobinique, sont situés en position voisine sur le même chromosome et font partie de la même unité de fonction.
- Allèles : Deux gènes homologues de deux chromosomes sont des allèles.
Exemple : deux gènes β .
- Site : Une mutation ponctuelle au niveau d'un cistron, siège au niveau d'un "site".
- Homoallèles : Deux mutations siégeant au même "site" sont dites homoallèles, par exemple : les mutations S, C, D, qui changent l'acide aminé n°6 du gène β , sont dits homoallèles.
- Hétéroallèles : Deux mutations siégeant en des "sites" différents du même cistron sont dites hétéroallèles, par exemple : les mutations des gènes C et E qui touchent respectivement les acides aminés n°6 et n°26 du gène β , sont des hétéroallèles.

Gène régulateur, gène opérateur et gènes de structure.

L'application de la théorie bactérienne de JACOB et MONOD, à ces problèmes, permet de distinguer :

- les gènes de structure portant l'information génétique à transmettre.
- le gène opérateur permettant cette transmission par une action du tout ou rien.
- l'ensemble formé par les gènes de structure, et le gène opérateur qui les commande s'appelle opéron.
- le gène régulateur, contrôlant l'activité du gène opérateur par l'intermédiaire d'un répresseur résultant de l'union de l'aporépresseur qu'il synthétise et d'un corépresseur exogène. Ce répresseur va se combiner au gène opérateur pour l'inhiber et empêcher, ainsi, la synthèse protéique dictée par le gène de structure, l'A.R.N. messenger n'étant plus formé.

La répression peut être levée par un inducteur qui s'unit au répresseur, et rend moins efficace son action sur le gène opérateur.

JACOB et MONOD distinguent d'ailleurs des mutants des gènes régulateurs, et des mutants des gènes opérateurs.

1 - Pour les gènes régulateurs (effet trans)

- Mutants constitutifs récessifs fabriquant un apo-répresseur incapable d'inhiber l'opérateur, entraînant une synthèse maxima par l'opéron.

- Mutants super-réprimés dominant, fabriquant un apo-répresseur qui inhibe puissamment le gène opérateur, qu'il y ait ou non présence d'inducteur.

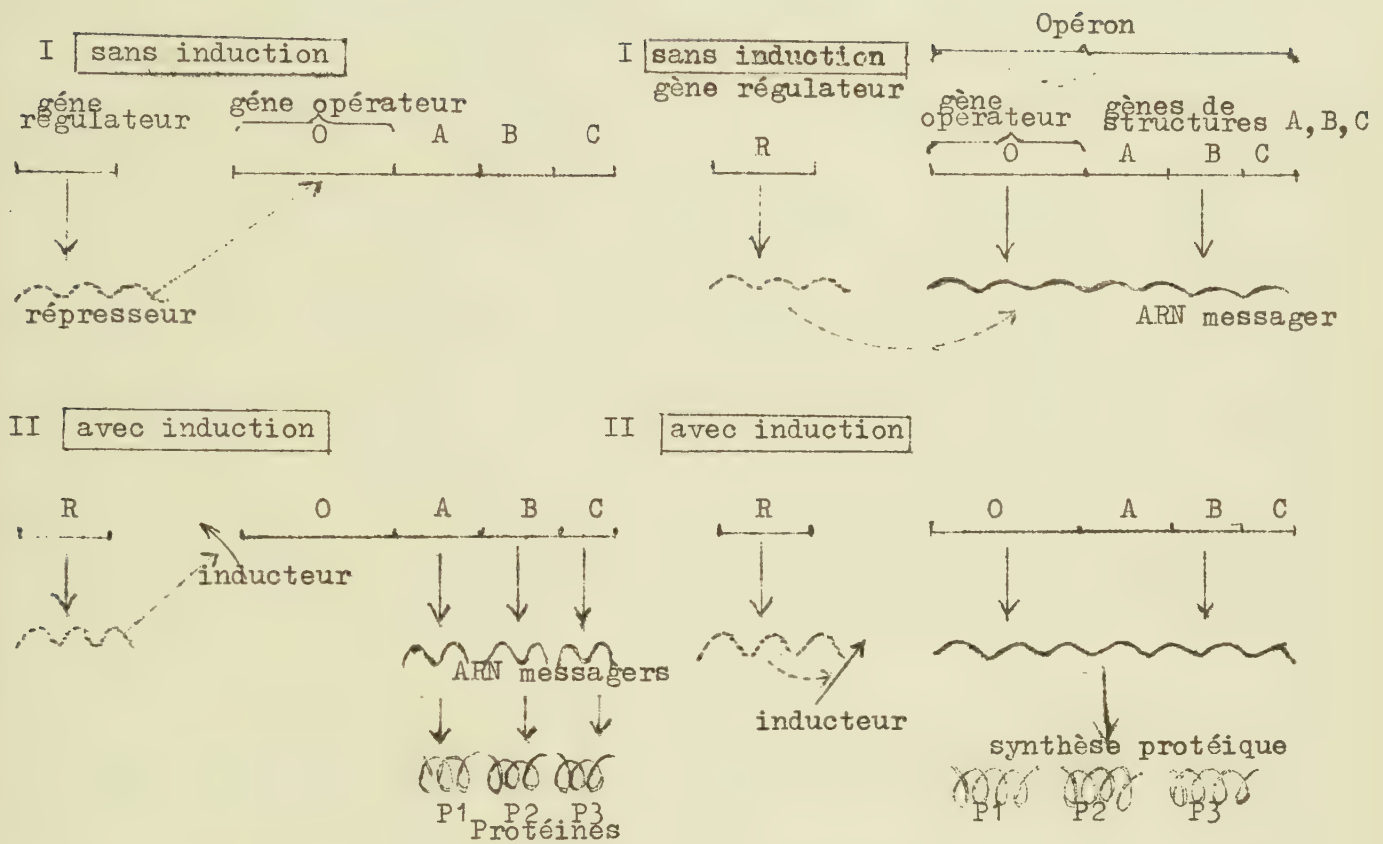
L'effet trans signifie action à distance sur le gène opérateur grâce à un intermédiaire.

2 - Pour les gènes opérateurs (effet cis)

- Mutants constitutifs insensibles au répresseur, provenant du gène régulateur, et entraînant une synthèse maxima (dé-réprimé dominant) par l'opéron.

- Mutants négatifs récessifs incapables de provoquer l'activité du gène de structure, entraînant une synthèse protéique nulle.

L'effet cis signifie ici, action par contact sur le gène de structure sans intermédiaire.



Modèle I de Monod et Jacob Modèle II de Monod et Jacob

Localisation chromosomique des gènes de la synthèse des chaînes α , β , δ et γ .

1 - Les gènes α et β , sont situés sur des chromosomes non homologues ou alors à grande distance sur des chromosomes homologues, le crossing-over, dans ce dernier cas, donnant les mêmes gamètes que dans le premier cas.

Cette conclusion est tirée de l'étude génétique de familles telles que celle de SMITH et TORTBERT.

2 - Les cistrons β et δ , sont voisins sur le même chromosome.

Ceci est prouvé par l'étude de la génétique de sujets doublement hétérozygotes pour des anomalies des chaînes β et δ . HORTON et HUISMAN (1963) ont trouvé dans la descendance de tels sujets, des rares cas de recombinaisons (par crossing-over), des deux chaînes anormales. Il s'agissait de l'Hb S et de l'Hb A₂¹ (voir schéma).

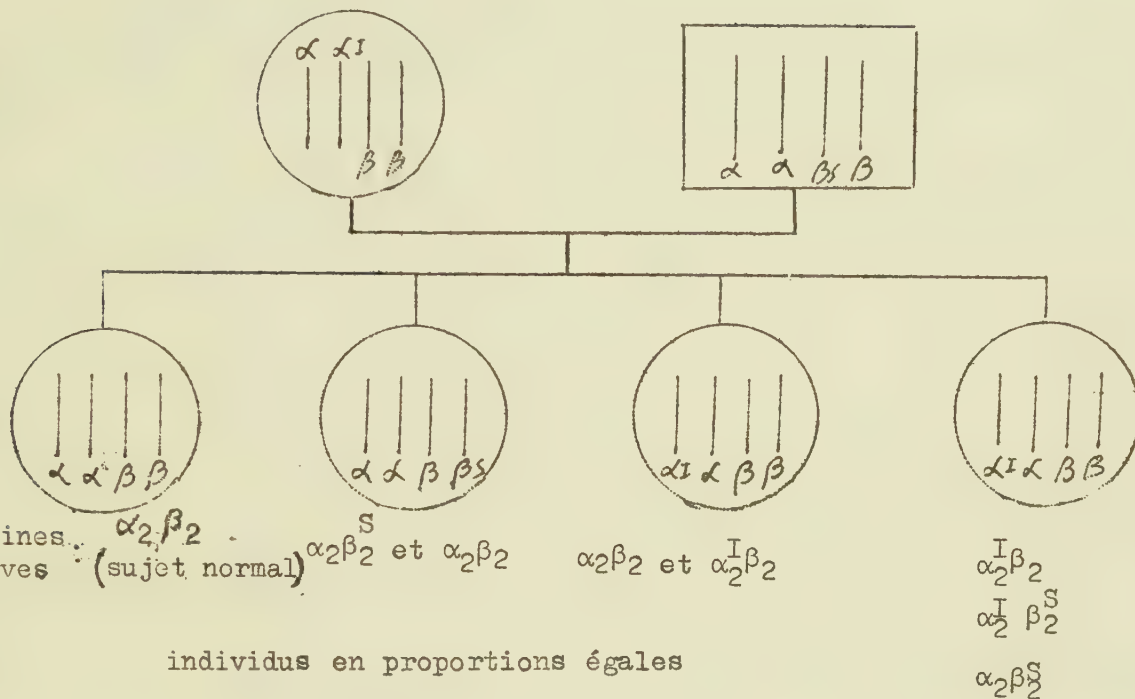
- D'autre part, les cistrons β et δ font partie d'un même opéron comme le prouve le fait que l'Hb A et l'Hb A₂ apparaissent en même temps au cours de la vie.

3 - Certains arguments permettent de penser que le cistron γ est étroitement lié, sur le même chromosome, aux cistrons β et δ .

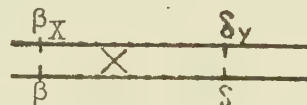
ooOoo

1 - Siège des gènes α et β .

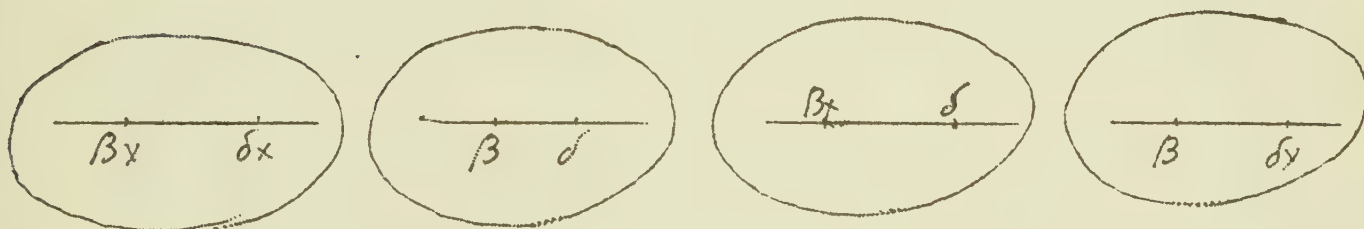
- Famille de SMITH et TORTBERT.



2 - Siège des gènes β_X et δ_Y .



Les gamètes haploïdes sont :



La proportion des deux gamètes 3 et 4, recombines par crossing-over, est fonction de la distance des gènes β et δ .

Or, on connaît un exemple : association d'une chaîne α anormale A_2^1 , donnant l'Hb B_2 , et la chaîne β anormale de l'Hb S.

La biochimie des hémoglobines anormales

L'étude des séquences a été effectuée en 1962, et, actuellement on connaît, dans un grand nombre de cas, le siège de la mutation de l'acide aminé.

Ainsi l'Hb S découverte par PAULING s'écrit : α_2, β_2^6 valine, ce qui signifie que le sixième acide aminé de la chaîne β de l'Hb A, c'est à dire, l'acide glutamique est remplacé par la valine.

Hb A = $\alpha_2 \beta_2^6$ glutamique
on écrit : Hb S = $\alpha_2 \beta_2^6$ valine
..... (aussi appelée Hb B)
de même :

l'Hb C découverte par ZUELZER et KAPLAN en 1950 s'écrit :

$\alpha_2 \beta_2^6$ lysine
et,

l'Hb E découverte en 1954 par CHERNOFF et MINNICH s'écrit :

$\alpha_2 \beta_2^{26}$ lysine

On voit également que Hb S a deux charges positives de plus, que l'Hb A, expliquant ses propriétés électrophorétiques.

Ces mutations entraînent des remaniements de la structure secondaire de la chaîne correspondante. Ainsi, dans le cas de Hb S, la valine apparue en 6 entraîne une cyclisation, par forces de Van der Waals, d'une partie de la chaîne, modifiant ainsi les propriétés physico-chimiques, en particulier la solubilité.

Bien d'autres Hb anormales ont été décrites.

A côté des 3 Hb anormales citées précédemment, on en connaît bien d'autres. D'une manière générale, on peut distinguer :

a - les Hb à chaîne β anormale :

Hb L₁ et L₂ (ZUELZER et ROBINSON)

Hb N, Hb O, Hb P, Hb Zurich

b - les Hb à chaîne α anormale :

Hb K, découverte par CABANNES, Hb HOPKINS,
Hb NORFOLK, Hb I (RUCKNAGEL et JENSEN),
Hb J (THORUP, WHELY et ITANO).

Chez les sujets porteurs de telles mutations, les 3 Hb A, A2 et F, sont à la fois touchées, car elles contiennent toutes une chaîne α anormale.

c - Les Hb pour lesquelles il existe deux sortes de variétés touchant, soit la chaîne α , soit la chaîne β :

exemple : Hb D a 2 variétés (Hb D PUNJAB, avec chaîne α anormale et Hb D Congo avec chaîne β anormale).

Il en est de même pour les méthémoglobines Hb M, l'Hb O et les Hb G (découvertes en 1954 par EDINGTON et LEHMALL).

d - On connaît des Hémoglobines à chaîne δ anormale.

Ainsi l'Hb B2 ou encore A_2^1 est une Hb A2 anormale qui migre plus lentement à l'électrophorèse que Hb A2. L'acide aminé n°12, le tryptophane de la chaîne δ normale est remplacé par une arginine dans la chaîne anormale.

2 % des noirs de GEORGIE sont affectés de cette hémoglobinose. Cette anomalie de la chaîne δ a même été rencontrée par BOULAND et COSSET en 1961, associée à l'Hb I, chez un algérien ; l'Hb A2 de ce dernier avait, donc, la formule suivante : $\alpha_2^1 \delta_2^{A1/2}$

e - Des anomalies de la chaîne γ , quoiqu'exceptionnelles ont été rencontrées : Hb Roma, Hb Alexandra. Une Hb dite Burlington a été mise en évidence chez un enfant dont l'étude de l'Hb avait révélé une hémoglobine alcali-résistante, de mobilité électrophorétique différente de l'Hb F, en réalité. Cet enfant portait deux anomalies : une de la chaîne γ et une de la chaîne α ; la chaîne α anormale était celle de l'Hb I (RANNEY et O'BRIEN).

CONCLUSION GENERALE :

Les études effectuées sur ces Hb ont enrichi nos connaissances sur les mécanismes génétiques qui dirigent la synthèse de l'Hb. En effet, chaque

acide aminé changé correspond au niveau du gène de structure à la mutation d'une ou deux bases du triplet, qui code cet acide aminé.

La connaissance de ces changements d'acides aminés nous renseigne sur les mutations qui se produisent au niveau des cistrons.

L'étude de la descendance des sujets atteints de deux hémoglobinoses, nous donne la connaissance des rapports des gènes.

On observe ainsi :

- soit une ségrégation indépendante des deux anomalies, si les deux sites mutés sont situés sur des chromosomes non homologues ou, à grande distance sur le même chromosome (exemple : une anomalie de la chaîne α et une anomalie de la chaîne β).

- soit une transmission à une même gamète d'une seule anomalie et non des deux à la fois, si les deux sites mutés sont situés en de points correspondants (homoallèle) ou de points voisins de deux chromosomes homologues ; dans le deuxième cas, ils peuvent siéger, soit au niveau du même cistron (hétéroallèle), soit au niveau de deux cistrons très voisins (mutations étroitement liées), telles deux mutations et deux des gènes β , γ et δ .

Mais il faut envisager le cas de crossing-over dans lequel la recombinaison des deux chromosomes homologues peut entraîner la transmission des deux anomalies ou la possibilité de gamètes, sans aucune des anomalies, si les mutations sont hétéroallèles ou situées sur des cistrons voisins. Dans le cas de mutations homoallèles, le principe d'exclusion réciproque des deux mutations dans les gamètes, reste absolu.

La fréquence des crossing-over, entre deux sites mutés étant proportionnelle à la distance séparant ces sites, la connaissance de telles recombinaisons permettrait d'évaluer les positions relatives des sites (sièges de mutations) les uns par rapport aux autres.

Les cas de Crossing-over, observés jusqu'à présent sont rarissimes.

Le brassage des peuples permettra aux études génétiques systématiques des sujets doublement atteints, d'estimer cette fréquence en termes de dis-

tance séparant les sites d'un même cistron ou de deux cistrons voisins β , δ et γ .

Malheureusement jusqu'à présent, les sujets doublement atteints le plus fréquemment porteurs de S et C, c'est à dire de deux mutations homo-allèles où le crossing-over est par définition impossible.

Les associations de ces hémoglobinoses et de la thalassémie permettront peut-être aux enquêtes familiales futures de localiser plus précisément le locus des gènes thalassémiques.

Cas particuliers :

Des hémoglobines, polymères d'une seule chaîne ont été décrites. Ce fait est établi grâce à des arguments expérimentaux sérieux. Nous citerons :

L'hémoglobine Bart's, de structure γ_4 . (RIGAS et OSGOOD)

L'hémoglobine H de structure : β_4

L'hémoglobine Porto Allègre octamère de la chaîne β (TONDO et SALZANO),

L'hémoglobine Gowers 1 de structure Σ_4 .

ooOoo

Variété	Répartition	Clinique (Homozygotes)	Associations
	<u>Hémoglobinopathies fréquentes</u>		
Hb S.....	Amérique, Afrique, Asie	Sévère anémie. Crises abdominales Ulcères des jambes.	Hémoglobines D, E, C, J
Hb D....	Nègres d'Amérique, Arabes d'Algérie, Hindous, Turcs	Asymptomatique	Hb S
Hb E...	Sud-Est asiatique	Légère anémie	Hb S Thalassémie
Hb H...	Pays méditerranéens, Chine		Toujours avec Thalassémie
Hb J...	Nègres d'Amérique, Arabes d'Algérie, Chine	Pas de manifestations cliniques	Hb S Thalassémie
Hb C....	Nègres, Arabes d'Algérie, Siciliens	Comme en hémoglobinoase S, sans drépanocytes	Hb S Thalassémie
	<u>Hémoglobinopathies rares</u>		
Hb G (plusieurs variétés)	Nègres d'Afrique	Pas de signes cliniques	
Hb I.....	Nègres d'Amérique	Pas de signes cliniques. Parfois falciformation	Thalassémie
Hb K....	Kabyles d'Algérie	Pas de signes cliniques.	
Hb L.....	Hindous de Pindjab	Pas de signes cliniques	
Hb M (plusieurs variétés)		Méthémoglobinémie congénitale	
Hb L....	Libéria	Pas de signes cliniques	
Hb Bart	Comme pour la Thalassémie		
Hb Norfolk	Angleterre		Toujours avec Thalassémie

BIOCHIMIE DES DIFFÉRENTES HEMOGLOBINOSES

Substitution sur la Chaîne				Substitution sur la chaîne					
Hémoglobine	Acide aminé substitué			Hémoglobine	Triplets		Acide aminé substitué		
	n°	HbA	Hb _a anorm.		Normal	Muté	n°	HbA	Hb anorm.
I - Murayama ...	16	Lys	Asp	C..... S..... E.....	UAG	UUG UAA	6 6 26	Glu Glu Glu	Lys Val Lys
J. Oxford	15	Gly	Asp	J. Baltimore			16	Gly	Asp
(Honolulu G (Singapour... (Hong Kong	30	Glu	Glu-NH ₂	G. San José...			7	Glu	Gly
G (Philadelphie (Bristol	68	Asp	Lys						
O Indonésie	116	Glu	Lys	O. Arabie....	UAG	UCG	121	Glu	Lys
Norfolk	57	Gly	Asp						
D. Congo				D. Punjab	UAG	UAG	121	Glu	Glu-NH ₂
Shimonoseki	54	Gly	Arg						
				Zurich	UAC	UAU	63	His	Arg
M. Boston	58	His	Tyr	M. Saskatoon		UGC	63	His	Tyr
M. Iwate	87	His	Tyr	M. Milwaukee			67	Val	Glu

SCHEMA DU COMPORTEMENT DE DIFFERENTES HEMOGLOBINES
PAR CHROMATOGRAPHIE ET ELECTROPHORESE

A	 
A ₂	
F	 
S	 
C	 
D	 
E	 
G	 
H	 
Bart's	
Chaînes α libres	
I	 
J	 
K	 
L	 
N	

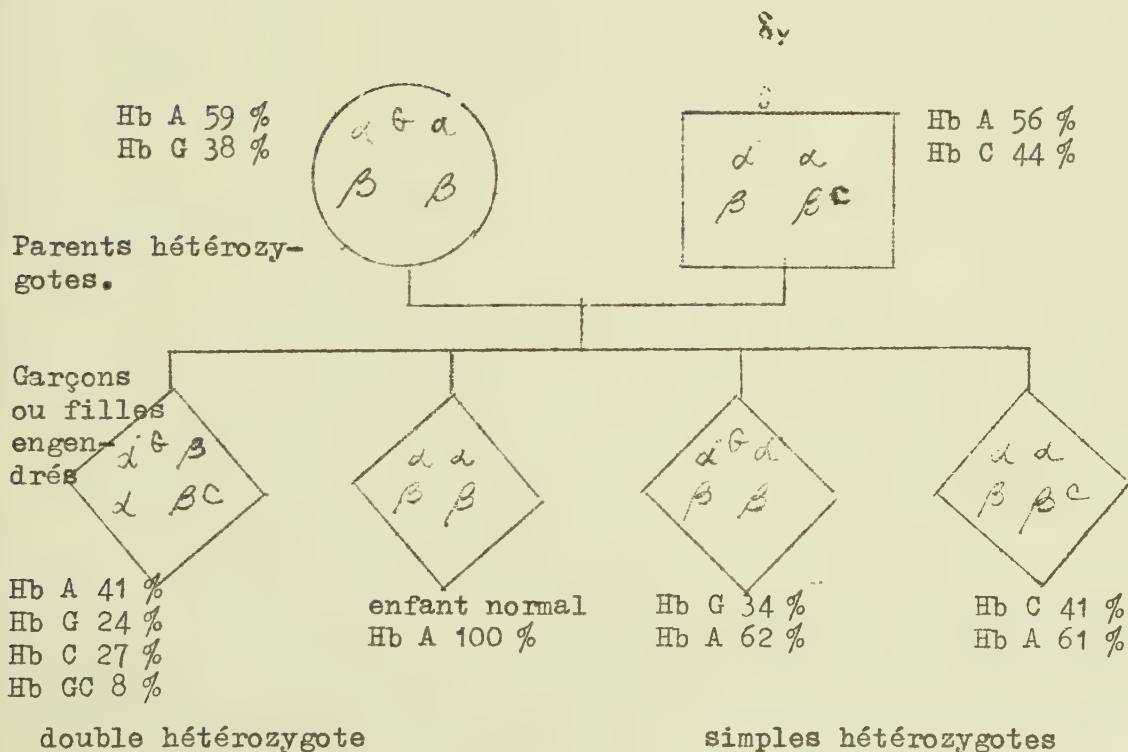
 Electrophorèse sur papier à pH 8,5

 Chromatographie sur résine échangeuse d'ions Amberlite IRC 50 à pH 6,5.

VITESSE DE SYNTHÈSE DES HEMOGLOBINES ANORMALES

Pour ITANO (1957), les taux relatifs des différentes fractions de l'Hb reflètent leur vitesse de synthèse. On a remarqué que chez les hétérozygotes A S ou A C, le taux de l'Hb A dépasse celui de l'Hb S ou Hb C, ceci pouvant être en rapport avec les vitesses de synthèse, réduite de l'hémoglobine anormale.

Chez les sujets doublement hétérozygotes, pour les chaînes α et β , les proportions des différentes hémoglobines reflètent les proportions qu'elles avaient chez les parents, c'est à dire, en d'autres termes, les vitesses de synthèse inhérentes à chaque gène, sont transmises avec ces gènes (WEATHERALL 1962).



On constate sur ce schéma que le taux d'Hb C, chez un parent est supérieur au taux d'Hb G chez l'autre parent ; chez l'enfant doublement hétérozygote, on retrouve le même fait concernant les quantités des hémoglobines anormales. On remarque aussi que leurs taux sont inférieurs à celui de l'Hb A.

Les différentes fractions sont donc, tout compte fait, moins synthétisées que l'hémoglobine normale.

ITANO a suggéré que les diverses possibilités de synthèse de l'Hb A se transmettent de manière héréditaire.

En fait, beaucoup de facteurs extrinsèques influent dans ces vitesses de synthèse.

On a évoqué différentes hypothèses pour expliquer la réduction de la vitesse de synthèse des chaînes anormales.

On a mis en cause :

- une réduction de la quantité d'A.R.N. messenger,
- un ralentissement de la formation de la chaîne polypeptidique au niveau du ribosome par la simple modification d'un acide aminé, ce que ITANO a appelé : Bloc de synthèse, le long de la chaîne.

La théorie du code génétique qui veut lorsqu'un acide aminé est changé, l'A.R.N. soluble est aussi changé, ce qui ralentirait la vitesse de synthèse (ITANO).

- Une différence d'affinité des dimères entre elles :

α_2 a une plus grande affinité pour β_2 que pour γ_2 (HUCHNS 1962), ou alors VRENER 1962. C'est la formation de la structure tertiaire de la chaîne qui après mutation d'un acide aminé serait le processus limitant.

- Une différence de vitesse du catabolisme des chaînes.

Il faut tenir compte en effet non seulement de la vitesse de synthèse mais aussi de la vitesse de dégradation, et RIEDER et Coll. ont suggéré une diminution relative de la vitesse de dégradation de l'Hb A, par rapport à celle des hémoglobines anormales.

HISTOIRE CLINIQUE
DE LA THALASSEMIE
ET LES ETATS ASSOCIES

OBSERVATION INITIALE DE COOLEY

COOLEY et LEE présentent en 1925 à Détroit leur première communication concernant une série de plusieurs enfants atteints d'un syndrome anémique associé à de la splénomégalie et à des altérations osseuses particulières, syndrome qui ultérieurement sera connu sous le terme de maladie de COOLEY.

Il s'agissait de cinq cas, dont quatre provenaient du "Children Hospital" de Michigan et un cas de la clinique du Docteur ABT.

Ces cinq cas présentaient le syndrome clinique ordinairement connu sous le nom de maladie de Von Jasck ou d'anémie pseudo-leucémique. On y observait de l'anémie, de la splénomégalie, et une certaine augmentation du volume du foie, une pâleur des téguments et dans certains cas, une décoloration des sclérotiques, sans présence de pigments biliaires dans les urines. Il existait une résistance normale ou augmentée, des hématies aux solutions hypotoniques. Chez tous, était notée la présence d'une leucocytose modérée, mais non du type leucémique, des globules rouges nucléés principalement des normoblastes, et chez deux d'entre eux de nombreux réticulocytes. Dans tous ces cas, les parents relataient des symptômes cliniques remarqués dès le 8ème mois, faisant penser que ces symptômes étaient au moment de l'examen, à un stade apparemment avancé. Chez aucun d'entre eux on ne trouvait de rachitisme probable ; dans un cas seulement il y avait des raisons valables de supposer que la syphilis pouvait avoir joué le rôle de facteur étiologique.

En plus de la splénomégalie, et de la formule sanguine, dans quatre cas du "Children Hospital" l'attention était attirée par un aspect mongoloïde

particulier, marqué par une augmentation des os du crâne et de la face, associée à la décoloration de la peau. Chez le malade du Docteur ABT, on remarquait également une augmentation de volume de la boîte crânienne. Les examens radiologiques des crânes montraient des altérations particulières de leur structure, que les radiologues considéraient comme pathognomoniques de cet état. Les os diaphysaires comportaient des altérations radiologiques évidentes. Ces altérations étaient semblables entre elles et différaient seulement par leur stade évolutif.

Trois des patients étaient morts, un quatrième avait subi un traitement anti-syphilitique en raison d'un diagnostic insuffisamment fondé de syphilis congénitale ; il commença à s'améliorer environ un an après l'arrêt de tout traitement, et semblait être en voie de guérison. Le cinquième était vivant après une splénectomie qui ne paraissait pas avoir amélioré son état. Il présentait en plus des symptômes initiaux d'achlorhydrie, certaines particularités dans le métabolisme du calcium et du phosphore, qui ne semblaient pas être en rapport avec l'anémie. On lui avait trouvé à plusieurs reprises de l'hémoglobinurie et en permanence de l'hémoglobinémie.

Depuis qu'il avait subi une splénectomie pratiquée sept mois auparavant, il possédait des chiffres très élevés de cellules rouges nucléées, dans le sang, atteignant le chiffre de 200.000. Les seuls résultats du traitement ont été obtenus grâce à des extraits de rate et de moëlle osseuse associés à la thérapeutique chlorhydropeptique. Une transfusion de sang n'avait provoqué qu'une légère et transitoire modification de la numération ; l'apparition rapide de sels et pigments biliaires dans les urines indiquait que le sang transfusé subissait une hémolyse rapide. Une 2ème transfusion, faite plus tard, fut suivie par une formule sanguine meilleure et une moindre hémolyse.

Une étude microscopique des différents tissus indiquait une hyperplasie de la rate, des dépôts pigmentaires foncés dans le foie, et une hyperplasie leucoblastique généralisée de tous les os, avec une aplasie érythroblastique.

Cette aplasie généralisée du tissu formateur des globules rouges semblait constituer la cause probable des manifestations cliniques, évoluant

depuis le début de l'affection, de cet enfant en l'occurrence depuis fort longtemps. C'est pourquoi on supposa que l'aplasie était congénitale, et que la maladie devait être considérée comme une forme d'anémie myélophytique.

L'étude du cas n° 3 fournissait la preuve, comme l'écrivaient les auteurs, "que l'organisme" par l'intermédiaire des territoires hématopoïétiques secondaires compensait l'aplasie médullaire.

Les auteurs concluent en formant le souhait que soient effectués des examens radiologiques des os dans d'autres formes d'anémie associée à une splénomégalie.

oo0oo

HISTORIQUE

1 - L'anémie de COOLEY, d'abord reconnue en 1925, a été ensuite affirmée comme une entité clinique par COOLEY d'abord et par de nombreux auteurs dans les années suivantes : américains, avec WIPPLE (1932) et WOLLMAN (1946), européens, avec CHOREMIS (1936), MONCRIEFF (1934), PEHU et LERICHE (1940), SPYLIPOULOS (1936), grecs avec CAMINOPETROS (1935 et 1937) et italiens avec CASSANO (1930), RAVENNA et CANNELLA (1943), ORTOLANI (1936), PARADISO (1933), CASTAGNARI, PONTONI (1937), FRANCAVIGLIA (1939) et bien d'autres.

2 - Indépendamment de cette entité clinique, RIETTI en 1925, et GREPPI en 1928 et 1935, avaient décrit en Italie, "un ictère hémolytique avec diminution de la fragilité globulaire" individualisant ainsi une autre entité clinique sans rapport avec la précédente.

De nombreux auteurs ont approfondi l'étude de cet ictère : auteurs italiens comme USSEGLIO (1934), BETTONI (1935), CROSETTI (1935), INGRASSIA (1938), MICHELI en 1929 et 1935, FORNARA 1936 et 1947, CRAUSS (1941), SPETI (1941), TOSCANO en 1947, auteurs chinois même comme WANG CH-Y qui ont rencontré cet ictère sur des enfants chinois.

Cet ictère était caractérisé par une hypochromie, une augmentation de la résistance osmotique globulaire, une microcytose, un poïkilocytose, une ovalocytose.

En conclusion, on constate donc que pendant plus de dix ans, la médecine connaissait deux entités cliniques bien nettes, bien séparées, l'une de l'autre et sans aucun lien. Ce n'est que plus tard que certains auteurs

ont rattaché la deuxième entité clinique précédente à une anémie de COOLEY atténuée (DAMESHEK en 1940 et ATKISON en 1939) et CHINI en 1939 la classa dans la catégorie générale "anémie de COOLEY".

Ainsi ce n'est qu'en 1939-1940 que furent faits les premiers pas en vue de rattacher les deux grands syndromes au même cadre clinique.

L'ictère de RIETTI, GREPPI, MICHELI fut décrit aussi sous le nom d'anémie méditerranéenne de l'adulte (BUFANO 1936, MALAMMOS 1940) ou encore sous le terme syndrome de COOLEY (DALLA VOLTA 1935, NERI 1945, VOORHIES 1944, CHINI 1938 et VALLISBERI 1940).

Des enquêtes génétiques concernant des sujets atteints d'un des deux grands syndromes précédents furent entreprises par : (DAMESHEK 1940, SMITH 1943, Mc INTOSH et WOOD 1942, COOLEY 1941, VALENTINE et NELL 1945, 1947).

Dans les familles de sujets atteints d'anémie de COOLEY, on observait chez les deux parents et dans plusieurs membres de la famille une hypochromie, de la microcytose, de la leptocytose et une augmentation de la résistance osmotique globulaire.

De telles recherches ont commencé par le travail de CAMINOPETROS en 1935, et continuées par ceux de GATTO, CHINI, SMITH, SILVESTRONI et BIANCO).

Les données hématologiques recueillies sont très proches de celles trouvées dans "l'ictère hémolytique avec diminution de la fragilité globulaire", elles reliaient encore plus les deux principales entités cliniques. Certains auteurs ont rassemblé les désordres hématologiques observés dans les familles ci-dessus dans un même ensemble clinique qui fut dénommé par CHINI : "désordre hématologique méditerranéen" en 1948, par VALENTINE et NEEL : "thalassémie mineure" en 1945, et par GATTO : "thalassémie minime" en 1947.

DAMESHEK en 1940, avait souligné dans cet ensemble clinique la présence, à l'examen, de la lame de sang des "cellules cibles" et de leptocytes.

SMITH en 1947 y avait de son côté observé aussi des hématies ponctuées, des ovalocytes, et des macrocytes pâles.

En somme, tous les caractères hématologiques cités se rencontraient aussi dans l'ictère hémolytique avec diminution de la fragilité globulaire et chez les frères et soeurs de malades atteints d'anémie de COOLEY. Ces troubles hématologiques étaient en outre fréquents dans les régions où l'anémie de COOLEY se rencontrait, et se transmettait de manière héréditaire. . . GATTO, DAMESHEK, SILVESTRONI et BIANCO soulignaient l'absence fréquente d'anémie et diagnostiquaient ces anomalies hématologiques souvent à l'occasion d'un examen hématologique de routine systématique, chez des sujets apparemment normaux.

C'est pourquoi CHINI et MALAGUZZI en 1947 rattachaient toutes ces formes au même groupe de désordres hématologiques qu'ils ont dénommés "syndromes hémopathiques méditerranéens" bien, qu'ils n'excluaient pas dans leur texte, l'atteinte possible de sujets, dont l'origine était autre que méditerranéenne.

La diversité des formes atténuées a poussé les auteurs à isoler différents syndromes. DAMESHEK (1942) utilisait le terme de "syndrome à cellules cibles et ovales", MICHELI en 1935, le terme "d'anémie hypochrome avec ovalopoïkilocytose", STRAUSS en 1941, celui "d'anémie microcytique familiale", et SILVESTRONI et BIANCO en 1944, celui "d'anémie microcytique constitutionnelle".

Cependant, tous ces syndromes avaient un air de famille, et l'on y retrouvait, plus ou moins associées une hyper-résistance osmotique, une hypochromie, une anisocytose, une ovalocytose, des cellules cibles, etc, etc Ils étaient tous bien séparés de l'anémie hypochrome achylique (ou idiopathique) par leur caractère ethnographique, l'absence de glossite, la sécrétion gastrique normale et l'absence de réponse au traitement martial.

Un élément hémolytique était très fréquent dans ces "syndromes hémopathiques méditerranéens". De même, une hyperplasie érythroblastique médullaire sans érythroblastose sanguine était notée.

Cependant, dans certaines formes, on ne retrouvait pas de signes d'hémolyse, et biologiquement des auteurs prouvaient l'existence d'un trouble des fonctions hépatiques, marqué par un défaut de conjugaison de la bilirubin.

bine. Etant limitées au bassin méditerranéen et s'accompagnant d'une hyper-résistance osmotique globulaire, ces formes ont été classées dans les syndromes hémopathiques méditerranéens.

Il apparaissait nettement dans les enquêtes génétiques que les deux parents de malades atteints de maladie de COOLEY présentaient une hypochromie, une hyper-résistance osmotique. Aussi GATTO (1941) dénommait l'état des parents "microcytose hyper-résistante". Cet auteur pensait sur ces données que l'anémie de COOLEY correspondait à un effet pathologique homozygote. Cela fut renforcé par les travaux de SMITH, NEEL et VALENTINE (1945), SILVESTRONI et BIANCO, etc

CHINI, de son côté, observait que les deux parents d'un malade atteints d'anémie de COOLEY présentaient "un désordre hématologique méditerranéen".

Ce "désordre" appelé encore "trait" fut caractérisé cliniquement par des pommettes saillantes, un écart des zygomatides, que SILVESTRONI et BIANCO schématisaient "faciès microcytique".

C'est VALENTINE et NEEL en 1944 qui ont employé les termes de "thalassémie majeure et de thalassémie mineure".

Alors que les auteurs ne pouvaient pas faire l'étude de la descendance des formes majeures, car, mortelles très tôt au cours de l'enfance cette descendance du "trait" faisait apparaître sa transmission génétique sur plusieurs générations successives.

Inversement, un parent sur deux, de sujets atteints de "désordre hématologique méditerranéen" était atteint du même désordre. Ainsi il apparaissait que le "désordre" ou "trait" correspondait à l'état hétérozygote du même gène.

De nombreux travaux ensuite se sont portés sur l'élément hémolytique de ce désordre ; ainsi les auteurs ont utilisé les termes de "diathèse hémolytique" ou de forme mixte d'ictère hémolytique, pour marquer la présence possible d'un facteur hémolytique constitutionnel.

Maintenant que l'on connaît les différentes formes possibles et nombreuses d'expressivité du gène, on conçoit qu'elles aient longtemps égaré les auteurs et fait parler de différents syndromes. Ce ne sera, que plus tard, avec l'apparition de l'électrophorèse comme moyen d'exploration, que les choses deviendront plus claires.

Parallèlement avec enquêtes cliniques, des travaux scientifiques étaient effectués pour rendre compte des anomalies observées.

WHIPPLE en 1932 postulait, pour expliquer les anomalies globulaires et les troubles de la vitesse de sédimentation, un défaut d'incorporation du fer dans l'hémoglobine.

LICHTWITZ, en 1936, étudiait les troubles du métabolisme des porphyrines; PEROSA insistait sur l'élévation du fer sérique; FREUDENBERG en 1942 soulignait la présence d'érythroblastose médullaire.

Il est intéressant de remarquer qu'avant l'apparition de l'électrophorèse en gel d'amidon, la classification de la thalassémie reposait surtout sur des critères hématologiques, on distinguait :

- 1 - thalassémie majeure, anémie hémolytique sévère,
- 2 - thalassémie intermédiaire, anémie moins sévère,
- 3 - thalassémie mineure : faible anémie,
- 4 - "érythrocytose microcytique",
- 5 - thalassémie minime avec, uniquement, légère leptocytose.

Les quatre dernières formes étaient rapportées à l'état hétérozygote par NEEL et VALENTINE (1944).

En 1948, VECCHIO décrivait une augmentation considérable d'hémoglobine de type alcalino-résistante, chez les sujets atteints de forme majeure de Thalassémie, suggérant la nature foetale de cette Hb (études des SINGER, SCHERNOFF 1951 et ITANO 1959).

Le taux Hb F atteignait couramment 50 %, cependant l'on pouvait trouver des taux de 10 %, dans le cas d'anémie de COOLEY.

Dans les formes mineures de Thalassémie, les taux d'Hb F s'élevaient de 1 à 5 % et la moitié des sujets ne possédaient pas de taux élevés.

Puis une étape capitale fut marquée en 1955 par la découverte de KUNKEL et WALLENIUS de l'hémoglobine A₂ par l'électrophorèse en gel d'amidon, et de son élévation dans la thalassémie.

Ce fait, confirmé par GERALD et DIAMOND, était retrouvé par d'autres auteurs sur de nombreux parents de sujets atteints de thalassémie majeure ; par conséquent, ils mettaient en évidence chez des sujets qui étaient donc hétérozygotes pour le gène Thalassémique, une élévation du taux d'Hb A₂.

D'un autre côté, d'autres parents de sujets atteints de formes majeures présentaient des taux normaux d'Hb A₂ (KUNKEL, KEPPEL, LINI 1957).

La variation du taux d'Hb A₂, chez les porteurs de Thalassémie, fit alors entrevoir l'existence de 2 types de Thalassémie (GERALD 1958) :

THALASSEMIE à taux élevé d'Hb A₂
et THALASSEMIE à taux bas d'Hb A₂.

Ainsi, nous nous rendons compte des immenses progrès réalisés depuis les vingt dernières années, qui ont abouti, grâce à des moyens de plus en plus précis à explorer les différentes formes de la maladie.

Le concept β - Thalassémie.

C'est l'observation de sujets doublement atteints de drépanocytose et de thalassémie, qui en a permis la distinction.

Ces sujets, croisés avec des sujets normaux, donnaient naissance à des enfants qui étaient, soit atteints d'une forme atténuée de drépanocytose, soit atteints d'une thalassémie mineure, mais jamais normaux, ni atteints à la fois de thalassémie et de drépanocytose.

De nombreuses observations semblables ont démontré que le gène thalassémique et le gène drépanocytaire étaient allélomorphes. Cependant, SILVESTRONI et BIANCO ont observé l'apparition d'un enfant normal, mais, ces

cas sont rarissimes (crossing-over ?) ; par conséquent, le site muté dans la thalassémie siège au niveau du gène β .

D'autre part, ces sujets doublement atteints, vus plus haut, possédaient des taux d'Hb S dépassant de loin le taux d'Hb A. Ceci s'opposait à ce que l'on savait à propos de la drépanocytose hétérozygote dans laquelle le taux d'Hb A dépassait énormément celui de l'Hb S.

Les auteurs interprétaient ces faits comme une conséquence de l'interaction des deux gènes anormaux, aboutissant à une diminution plus importante de l'activité du gène β thalassémique que de celle du gène S.

génotype de ces sujets :

α	β^{thal}
α	β_s

Grâce à ces résultats, on pouvait aussi conclure que le gène thalassémique se traduit par une chute de l'activité synthétique de la chaîne correspondante.

Le concept α - Thalassémie.

En 1955, RIGAS et OSGOOD rapportaient le cas d'une famille chinoise où ils découvraient une hémoglobine migrant, à pH alcalin plus vite que l'Hb A : l'hémoglobine H.

GOUTAS et FESSAS en 1955 observaient fréquemment cette hémoglobine H dans les syndromes thalassémiques, particulièrement dans le Sud-Est asiatique.

Cette hémoglobine H est facilement dénaturée, et donne par précipitation des granulations dans les hématies colorables au bleu crétyl. Son analyse chimique montrait une structure β 4 (JONES et SCHROEDER 1959).

En 1957, fut décrite par FESSAS et PAPASPYROU, une nouvelle hémoglobine isolée du sang ombilical d'un nourrisson né de parents, porteurs d'un syndrome thalassémique ; elle fut appelée hémoglobine Bart's en raison du nom de "Barthélémy Hospital" où se trouvait l'enfant.

En 1958, LEHMANN observait un cas semblable et en plus retrouvait de l'Hb H, chez un des parents.

Cette hémoglobine Bart's était de plus retrouvée chez des adultes porteurs de taux élevés d'hémoglobine H (HUEHNS et FLYNN 1960).

En 1959, LEHMANN démontrait que l'Hb Bart's avait la structure γ_4 .

Ainsi, certains syndromes thalassémiques comportaient la présence des hémoglobines précédentes, et de plus, ils faisaient partie des syndromes thalassémiques à taux d'Hb A₂ bas.

Mais, c'est surtout les enquêtes génétiques qui ont abouti à l'individualisation du gène α thalassémique.

Les doubles hétérozygotes, porteurs de certains syndromes thalassémiques et sicklémie donnaient naissance, en proportions égales, à des enfants, soit doublement atteints, soit normaux, soit porteurs isolément de syndromes thalassémiques ou de sicklémie. Ce résultat (SILVESTRONI et BIANCO 1952) prouvait l'existence d'un gène thalassémique indépendant du gène β .

Génotype de ces doubles hétérozygotes :

α Thal	β_s
α	β

D'autre part, l'étude de sujets doublement affectés d'hémoglobinoase α (comme Hb I) et de thalassémie, montrait l'absence d'enfants normaux et doublement atteints (ATWATER, SCHWARTZ, ERSLEY et MONTGOMERY 1960). Ce résultat indique que le gène thalassémique de cette observation était allélomorphe du gène I, ou que le site muté par la thalassémie siège ici au niveau du gène α .

Génotype de ces doubles hétérozygotes :

αI	β
α Thal	β

Comme dans la thalassémie, on observe chez ces sujets, une très nette augmentation de Hb I, par rapport à l'Hb A (LEHMANN 1958). Cela a fait parler également, de l'interaction des gènes anormaux.

Dans ces syndromes thalassémiques, l'existence de certains taux d'Hb Bart's et d'Hb H (5 à 15 % chez l'hétérozygote d'Hb Bart's selon WEATHERALL), indique une réduction de l'activité du gène α thalassémique ; les chaînes γ et β normalement synthétisées se tétramérisent en conséquence. Cela explique

aussi que le taux d'Hb A₂, dans ces syndromes thalassémiques soit toujours bas.

Nous savons l'extraordinaire variation d'expressivité du gène thalassémique, selon les sujets, qui rend très polymorphe la symptomatologie clinique et hématologique de cette maladie.

Schématiquement, nous savons que trois grandes formes ont été décrites :

- la Thalassémie majeure, ou maladie de COOLEY, rapportée à l'état homozygote du gène.
- la Thalassémie mineure ou syndrome de RIETTI, GREPPI, MICHELI.
- la Thalassémie minime de SILVESTRONI et BIANCO ou trait thalassémique, ou encore connue auparavant sous le nom de microcytémie constitutionnelle.

Ces deux dernières formes sont rapportées à l'état hétérozygote du gène. Toute une gamme de formes cliniques intermédiaires existent, cependant, entre elles.

LA BETA THALASSEMIE MAJEURE OU MALADIE DE COOLEY

Le début des manifestations cliniques se fait progressivement dès les premiers mois de l'existence. Il est parfois plus tardif, et les premiers signes peuvent ne pas apparaître avant la cinquième année. Il semble que les formes les plus graves, soient celles qui ont commencé le plus tôt.

Les signes de début peuvent être une pâleur, une fièvre inexplicée, des douleurs abdominales, une splénomégalie.

Le tableau clinique est riche en général.

Les téguments ont une pâleur jaunâtre mêlée de pigmentation, à la racine des cheveux et sur le dos des mains. Il existe un subictère conjonctival. L'asthénie est frappante, la fièvre parfois irrégulière et prolongée. L'hypotrophie est marquée.

On observe une dysmorphie particulière avec faciès mongoloïde, pommettes saillantes, yeux écartés et bridés, ensellure nasale, sourcils et lèvres supérieures arqués. Le crâne est volumineux, natiforme par saillies des bosses frontales et pariétales, le front olympien.

L'enfant est porteur d'une splénomégalie volumineuse, et parfois d'une hépatomégalie.

L'insuffisance cardiaque peut se voir.

Il semble que les infections et les parasitoses soient plus fréquentes sur ce terrain.

Le développement somatique et psychique est ralenti.

LA RADIOGRAPHIE :

est très importante. Elle a fait l'objet de l'excellent travail de MOSELY (1962).

Les modifications osseuses résultent de l'hyperplasie médullaire compensatrice.

La radiographie montre des déformations très spéciales :

Au niveau du crâne, un élargissement du diploë surtout, prédominant sur le frontal, une ostéoporose de la voûte. Parfois est réalisé l'aspect en "poils de brosse", avec spicules dirigées entre les deux tables de l'os, ou bien un aspect trabéculaire, ou encore micro-lacunaire "mangé aux mites".

Au niveau de la face, on peut observer un épaississement des os, surtout du zygoma.

Aux membres, l'ostéoporose diffuse, avec élargissement du canal médullaire des os longs et amincissement des corticales, est fréquente. Des aspects pseudo-kystiques ou filamenteux, au niveau des coudes, des métacarpes et des métatarses se rencontrent parfois.

Les fractures spontanées sont exceptionnelles ; les cartilages de conjugaison peuvent être altérés.

Mais les signes radiologiques sont, statistiquement, moins fréquents que les autres signes, et aucun d'eux n'est pathognomonique de la maladie.

EXAMEN HEMATOLOGIQUE :

L'anémie est toujours sévère (2 à 3 millions) s'accroissant par crises.

Cette anémie est hypochrome.

Le volume globulaire moyen est diminué, inférieur à $80\mu^3$. Il y a donc, anémie hypochrome microcytique.

Le taux d'hémoglobine est couramment au-dessous de 5 g par 100 ml.

La valeur globulaire est inférieure à 0,70.

La teneur globulaire des hématies est inférieure à 20 μ Y. La concentration globulaire moyenne en hémoglobines est basse.

La morphologie des cellules rouges montre une anisocytose avec des tailles variant de 3 à 12 μ . La courbe de PRICE-JONES, montre la dispersion des diamètres globulaires, autour du diamètre moyen.

On observe une poikilocytose, une anisochromie, des déformations des hématies en bâtonnets, en poires.

Il existe des hématies en cibles avec pigmentation centrale. Parfois on trouve des planocytes, des leptocytes, des schizocytes, ou même des macrocytes.

La réticulocytose est élevée et atteint souvent 50 %.

Les hématies nucléées à granulations basophiles peuvent être rencontrées ; de même que des érythroblastes basophiles, polychromatophiles, orthochromatophiles ou des hématies à restes nucléaires de JOLLY.

Beaucoup d'érythroblastes contiennent des granulations basophiles colorables au méthylviolet (FESSAS 1963).

Les mensurations globulaires confirment la microcytose, la planocytose, la diminution de l'indice d'épaisseur.

La leucocytose est augmentée (entre 10 et 20.000) avec une proportion notable de cellules jeunes (myélocytes).

Les plaquettes sont normales en général.

Le myélogramme est très riche en érythroblastes, surtout basophiles ; l'hyperplasie est érythroblastique très marquée.

La résistance osmotique globulaire aux solutions hypotoniques est augmentée. L'hémolyse initiale se fait à des concentrations salines normales ou subnormales, mais l'hémolyse totale n'est obtenue qu'à de basses concentrations (1 % voire moins). La courbe d'hémolyse est très allongée.

Dès 1943, SILVESTRONI et BIANCO utilisaient cette augmentation de la résistance osmotique globulaire pour faire le diagnostic de la thalassémie, au moyen d'un simple tube à essai, lors de sondages de populations.

A l'opposé, la résistance mécanique des hématies est abaissée.

L'anémie est hémolytique ; l'hémolyse est caractérisée par une hyperbilirubinémie indirecte, une urobilinurie, une augmentation du stercobilinogène fécal et de l'index hémolytique ; la réticulocytose sanguine et l'érythroblastose sanguine et médullaire sont des conséquences de cette hémolyse marquée. Le taux d'haptoglobine est très bas.

La recherche d'auto-anticorps, par les différentes techniques connues (test de Coombs, test de Munch-Andersen), effectuée dans un but diagnostique est toujours négative.

L'hémolyse est décompensée ; elle s'associe à un certain degré d'insuffisance médullaire, par arrêt relatif de la maturation érythroblastique.

SELWYN (1953) a étudié l'incubation d'hématies in vitro et a montré une autohémolyse à la limite supérieure de la normale, et un taux plus élevé de potassium globulaire.

Il faut mentionner que les critères cliniques et surtout hématologiques ont constitué longtemps les seules bases diagnostiques de la thalassémie majeure.

Biochimiquement, on observe une importante augmentation du fer sérique, atteignant facilement plus de 200 γ par 100 ml.

La Thalassémie donne une anémie hypochrome hypersidérémique.

Ces fortes quantités de fer saturent la presque totalité de la sidérophiline ; la pathogénie de l'hypersidérémie est hésitante :

hyperhémolyse ou inefficience médullaire.

A ce propos, on trouve de grandes quantités de fer dans la moëlle : sidérocytes, sidéroblastes colorables au P.A.S. (ASTALDI 1954).

Grâce au microscope électronique (BESSIS) on a pu voir des anomalies de structure cytoplasmique. Des grains de ferritine intra-mitochondriaux sous forme d'amas carrés à quatre éléments de 50 m μ de côté ont été aussi retrouvés dans les réticulocytes, alors que normalement on ne les voit que dans les érythroblastes, on a là, l'indication d'un défaut d'incorporation du fer dans l'hémoglobine.

Absorption du fer dans la Thalassémie :

Selon LEHMANN(1961), il y aurait augmentation de l'absorption du fer dans la thalassémie.

Cet auteur signale deux cas de thalassémie mineure présentant une hémochromatose bien qu'ils n'avaient pas reçu de transfusions alors qu'habituellement l'hémochromatose est secondaire aux nombreuses transfusions de sang. WITZLEBEN et WYATT ont eu la preuve par l'étude de longues survies que l'accumulation de fer dans les viscères est due en grande partie au fer absorbé par voie digestive et ce davantage que par l'apport transfusionnel.

Actuellement les épreuves d'absorption du fer radio-actif donnent des valeurs à la limite supérieure de la normale.

La surcharge ferrique détermine plus ou moins vite une hémochromatose ; la plupart du temps, elle fait suite aux transfusions. Elle intéresse le foie (cellules de KUPFER), la rate, les glandes endocrines, et le myocarde.

Pour SCHWARTZ et BLUMENTHAL, la surcharge importante observée nécessiterait un processus primitif propre.

L'étude histologique du foie révèle la surcharge ferrique à la coloration de PERLS et à la coloration d'ALTMAN ; il y aurait un rapport inverse entre le nombre des mitochondries et leur charge en fer. Le carmin de BEST objective des grains d'allure cristalline très réfringents, dans le cytoplasme des cellules hépatiques.

Enfin, l'évolution vers la cirrhose est possible.

Les études au moyen des isotopes radio-actifs ont été entreprises depuis 1957.

Le temps de demi-vie des hématies au Cr51, en accord avec les résultats obtenus par la technique d'ASHBY, est de 7 à 20 jours. La courbe de radioactivité suggère l'existence de deux types de populations de globules rouges, l'une rapidement détruite $T_{1/2} = 35$ heures, l'autre à durée de vie normale (27 jours).

Les comptages externes ont montré le rôle de la rate dans cette destruction.

En outre, la transfusion d'hématies de sujets thalassémiques marqués au chrome 51 à un sujet normal est suivie d'une augmentation importante de la radioactivité splénique.

Inversement, la transfusion à un thalassémique d'hématies (d'un sujet normal) marquées au chrome 51 montre que la rate a un rôle destructeur d'autant plus marqué que la maladie a évolué depuis longtemps. READ a, en effet, montré qu'après la splénectomie la durée de vie moyenne des hématies augmentait de dix jours.

Donc, à côté du rôle du facteur érythrocytaire il existe une participation splénique pour expliquer la pathogénie de l'hémolyse et par conséquent la courte durée de vie moyenne des hématies.

Cette destruction globulaire apparaît indépendante du taux d'Hb F et du degré d'anémie (ERLANDSON 1958).

Il semble, actuellement, que les globules rouges à longue durée de vie soient ceux qui contiennent une majorité d'hémoglobine F et ceux à courte durée de vie, ceux qui contiennent une majorité d'Hb A.

Le test au chrome nous indique aussi si l'hémolyse est compensée ou non. (Elle est pratiquement toujours décompensée dans la forme majeure).

Les études au fer radio-actif ont été effectuées par LARIZZA, VENTURA, MARIOLI, SULIS (1958).

En France, de mêmes recherches sont effectuées par FAUVERT et BOIVIN.

Les résultats peuvent être résumés comme suit :

1 - La période de la première exponentielle du fer plasmatique (selon POLLYCOVE $N = 80$ à 120 minutes) est très raccourcie, ce qui indique une forte augmentation de l'épuration plasmatique.

La deuxième exponentielle est à peu près normale.

En somme le renouvellement plasmatique du fer est très augmenté.

2 - Il existe une diminution de l'utilisation du fer incorporé dans les hématies avec un plateau à 60 % ($N = 80$ %). Ce pourcentage correspondait à la radio-activité incorporée dans les globules rouges au dixième jour. En outre, la radio-activité globulaire apparaît très tôt le 4ème jour (normalement vers le 9ème - 10ème jour).

La vitesse de renouvellement quotidienne du fer héminique est augmentée.

3 - Il existe une augmentation du fer des réserves.

Ces résultats qui devraient être complétés par le calcul des différents paramètres selon les modèles caténaire et mamillaires, font la preuve de l'hyperactivité médullaire avec érythropoïèse inefficace. La présence d'une hyperplasie érythroblastique médullaire compensatrice associée suggère une destruction prématurée de nombreux globules rouges dont nous retrouvons, en effet, la radioactivité dans l'urobilinogène (STURGEON 1957).

4 - Une augmentation marquée de la radio-activité hépatique et splénique est retrouvée secondairement.

Il est courant de pratiquer les études au fer 59 et au chrome 51, simultanément, grâce à un spectromètre gamma.

Les dosages d'érythropoïétine ont montré l'effort compensateur de la moëlle. ISBIKAWA et HAMONS (1961) trouvent des valeurs élevées d'érythropoïétine lorsque le taux d'hémoglobine est inférieur à 8 g par 100 ml.

TURPIN a signalé une hypercuprémie dans la thalassémie.

Caractéristiques de l'hémoglobine dans la thalassémie majeure

1 - L'Hb A

On a vu plus haut, qu'il existait une insuffisance de la synthèse des chaînes β dans la β Thalassémie (dans "le concept β thalassémie").

Certains auteurs (INGRAM) ont suggéré qu'il pouvait exister dans cette maladie un changement d'acide-amino, à l'instar des substitutions d'acides-amino dans les hémoglobinoses.

C'est pourquoi, les techniques se sont multipliées pour essayer de mettre en évidence des caractères différentiels entre l'hémoglobine A de thalassémie majeure, et l'hémoglobine de sujets normaux.

L'électrophorèse, utilisant différents pH et tampons n'a pas permis de mettre en évidence une différence entre ces hémoglobines. Les fingerprints de l'hydrolysât tryptique et de l'hydrolysât chymotryptique du "core" tryptique-résistant ne montrent pas de peptide anormal (BAGLIONI 1963).

Les chaînes α et β , de l'hémoglobine A de sujets normaux et de l'Hb A de sujets atteints de thalasso-drépanocytose, ont été séparées et comparées. Leurs peptides avaient respectivement la même composition en acides-amino et le même comportement chromatographique et électrophorétique (GUIDOTTI).

JONES a mis au point en 1961 une technique très sensible pour comparer des hémoglobines différentes. Il mélange de l'hémoglobine A thalassémique et de l'hémoglobine de sujet normal et effectue une chromatographie sur Amberlite GC50. Il n'obtient qu'un seul pic élué, et ce résultat est constant même après marquage isotopique des hémoglobines. Pourtant, cette technique appliquée au mélange d'hémoglobine humaine et simiesque dont les structures sont très voisines, donnent deux pics de radioactivité. C'est pourquoi, ZUCKERKANDL concluait à l'identité de l'hémoglobine normale et thalassémique.

Seule, l'étude complète des séquences apportera un jour la vérification de cette hypothèse.

Le taux d'Hb A dans la thalassémie majeure est très faible. Dans certains cas même, elle peut être complètement absente, remplacée par de l'Hb A₂ et F. FLESSAS et KARAKLIS (1962) ont vérifié cette absence par électrophorèse bidimensionnelle en gel agar.

2 - L'Hb F

VECCIO, le premier, constata, en 1946, de grandes quantités d'Hb F chez des patients. Cette Hb alcalino-résistante atteignait un taux allant de 30 à 90 % du total de l'Hb. L'hémoglobine de "type foetal" de Thalassémie a tous les caractères de l'Hb foetale du sang du cordon. Electrophorèse-spectre, U.V.-cristallisation, finger-print ne montrent pas des différences avec l'hémoglobine normale du fœtus.

Cependant les deux Hb alcalino-résistantes ont un comportement différent à l'électrophorèse en tampon cacodyle pH 6,5 (DERRIEN 1959) et en gel d'amidon associant un détergent cationique (HOERMANN).

Les spectres infra-rouges suggèrent une petite différence dans la structure secondaire (TURCO).

Ainsi, la structure des deux Hb est très proche et l'étude des séquences permettra un jour de la déterminer.

La technique de KLEIHAUER, BRAUN et BETKE 1957 d'élution acide laissait penser que l'Hb foetale était répartie principalement dans une seule lignée de globules rouges ; cependant, SHEPHERD et WEATHERALL, par une méthode photométrique, qui mettait en évidence la répartition hétérogène de Hb F dans les globules rouges, écartaient l'hypothèse de l'existence d'un seul clone cellulaire à Hb F.

Chez les sujets splénectomisés et chez ceux ayant reçu transfusion, le taux d'Hb F ne variait pas. Ce fait démontrait ainsi la présence d'un contrôle génétique précis de la synthèse des chaînes α γ .

Le renouvellement de l'Hb F a été étudié in vitro, au moyen de glyco-colle C¹⁴, on a ainsi observé que la destruction de l'Hb F est plus lente que celle de l'Hb A et l'Hb A₂.

De plus, l'incorporation de leucine C¹⁴ montrait in vitro une incorporation plus lente dans l'Hb F, que dans l'Hb A. Ceci prouvait que malgré une vitesse de synthèse plus lente pour l'Hb F, la durée de vie des globules rouges, contenant beaucoup d'Hb F, est bien plus longue (GABUZZA, 1963) que celle des autres.

BURKA et MARKS ++ ont étudié en 1964 la biosynthèse "in vitro" de l'Hb F par des ribosomes de réticulocytes de sang de cordon ombilical et comparé les résultats avec ceux obtenus lors de la bio-synthèse d'Hb F, de réticulocytes de sang thalassémique, au moyen d'acides aminés radio-actifs. Dans tous les cas, il existait une très importante diminution de l'incorporation de la radio-activité, c'est à dire de la vitesse de synthèse dans le deuxième cas.

En résumé, tout se passe comme si l'Hb F est synthétisée à vitesse ralentie chez le thalassémique et que d'autre part son élévation dans les globules rouges leur permet de conserver une durée de vie à peu près normale (GABUZZA 1963).

Du point de vue pratique, l'élévation du taux d'Hb F est dans la thalassémie majeure un critère diagnostique important.

Ainsi, CHOREMIS, sur 61 malades trouve 52 cas où le taux d'Hb F dépasse 50 %, un cas où il était de 93 %, et seulement quatre cas où il n'était que de 17 % ou moins.

3 - L'HEMOGLOBINE A

Le taux d'Hb A₂ n'est pas lié à la gravité de l'anémie. Il est cependant lié au taux d'Hb F.

Ce taux d'Hb A₂ présente une grande variabilité au cours de la Thalassémie majeure (SILVESTRONI et BIANCO 1959). Il varie pour chaque cas, et, l'échelle oscille entre 1,5 et 5 % (N de 2 à 3 %).

Il est important de remarquer que, même, lorsque les deux parents d'un homozygote thalassémique présentent des taux élevés d'Hb A₂, l'homozygote, lui, présente un taux normal d'Hb A₂. C'est la forme désignée β thalassémie homozygote "Hb A₂ haute".

De même, lorsque les parents ont, l'un une thalassémie à taux d'Hb A² élevé et l'autre parent un β thalassémie à "taux élevé d'Hb F", l'enfant double hétérozygote, présente des normaux d'Hb A².

Signalons les difficultés d'appréciation du taux d'Hb A² étant donné les transfusions fréquentes.

KUNKEL a montré que le rapport $\frac{\text{Hb A}}{\text{Hb A}_2}$ augmente en fonction de l'Hb F suivant les sujets ; ceci simplifie mathématiquement qu'il existe une relation inverse entre le taux d'Hb F et celui d'Hb A₂.

En effet, l'étude statistique montre qu'il existe bien, malgré quelques exceptions, une corrélation inverse entre les deux taux. Ainsi, un taux d'Hb F très élevé s'accompagne d'un taux bas d'Hb A, alors que des taux d'Hb F de 20 à 50 % s'accompagnent de taux d'Hb A₂ modérément élevés (WEATHERALL). Le rapport $\frac{\text{Hb F}}{\text{Hb A}_2}$ normalement de $\frac{40}{1}$ est de $\frac{10}{1}$ lorsque le taux de Hb F est de 10 % (KUNKEL).

Le taux d'Hb A₂ n'est pas en rapport avec la sévérité du tableau clinique.

La teneur globulaire des hématies en Hb A₂ est au-dessous de la valeur normale de 0,75 pY. Cela indique qu'il y a aussi défaut de synthèse de l'Hb A₂, dans la Thalassémie majeure. Ce défaut de synthèse est toutefois relativement moins marqué pour Hb A² que pour Hb A, d'où les résultats observés.

4 - FESSAS et LOUKOPOULOS (1964) isolent à l'électrophorèse une bande en gel d'amidon de migration lente et qui disparaît par addition d'Hb H ($\beta 4$). On pense que cette bande correspond à un excès de chaînes α libres vu l'insuffisance de la synthèse de chaîne β (CHERNOFF 1964) qui existe dans la thalassémie majeure.

Des composants mineurs non hémoglobiniques ont pu être isolés à l'électrophorèse en gel d'amidon.

Les enquêtes génétiques faites chez des malades atteints de Thalassémie majeure, ont permis d'individualiser certaines formes suivant les ré-

sultats des dosages d'Hb A₂ et F, chez les deux parents, car les mêmes données sont retrouvées dans de nombreuses observations ; on a ainsi utilisé l'entité "βthalassémie à Hb A haute", lorsque les 2 parents ont un taux d'Hb A₂ élevé (voir le tableau).

De ce qui précède, il apparaît clairement la nécessité de procéder à une enquête familiale approfondie, en particulier, de faire l'électrophorèse sur gel d'amidon pour dosage des différentes fractions, sans se contenter de l'insuffisant résultat qualitatif de l'électrophorèse sur papier.

Les électrophorèses d'hémolysats doivent être faits sur gel d'amidon, bloc d'amidon et gel Agar à pH 8,6 et pH 7,1.

La limite supérieure normale de Hb A₂, dans ces conditions, peut être considérée à 2,5 ou 3 %.

Quant au taux d'Hb F, déterminé par la méthode BETKE, MARTI et SCHLICHT, il doit être inférieur à 2,5 %.

Les anomalies des globules rouges doivent être chiffrées si possible, en chiffres +.

Cependant, le taux d'Hb A₂ du sujet homozygote ne peut servir de critère diagnostique, car trop variable.

Evolution de la Thalassémie majeure :

C'est grâce aux transfusions répétées, aux antibiotiques que l'on réussit à gagner quelques années de survie. Mais il se produit inévitablement des surcharges de fer, entraînant une hémochromatose avec atteinte cardiaque, hépatique, allant jusqu'au diabète sucré, et, des glandes endocrines, avec puberté retardée.

Il est rare que l'enfant thalassémique parvienne à l'âge scolaire dans les formes de la première enfance. Chez le nourrisson, elle est mortelle en moins d'un an.

T A B L E A U

DETERMINATION DU GENOTYPE THALASSEMIE A PARTIR DES DONNEES
PARENTALES D'APRES CERTAINS AUTEURS

<u>CARACTERES PARENTAUX</u>	<u>GENOTYPE POSSIBLE</u>	<u>AUTEURS</u>
Taux d'Hb A ₂ élevé chez les deux parents	"Homozygote β Thalassémie avec Hb A ₂ haute"	KUNKEL 1957 DJERAOD & DIAMOND
Taux d'Hb A ₂ élevé chez un parent et taux d'Hb A ₂ normal avec taux Hb F élevé chez l'autre parent	"Hétérozygote pour le caractère β Thalassémie avec Hb A ₂ haute et du caractère β Thalassémie Hb A ₂ normale	ZUELZER 1961 WOLF & IGNATOV 1963 FESSAS 1961
Taux d'Hb A ₂ élevé chez un parent et des taux d'Hb A ₂ et d'Hb F normaux avec signes hématologiques de Thalassémie chez l'autre parent.	"Hétérozygote pour le caractère β Thalassémie avec Hb A ₂ haute et le caractère β Thalassémie, avec Hb A ₂ et Hb F normaux.	BERNINI 1962
Taux d'Hb A ₂ chez un parent et caractère Hb, chez l'autre parent LEPORE.	"Hétérozygote par le caractère. β Thalassémie avec Hb A ₂ élevée et hémoglobine LEPORE.	GERALD & DIAMOND 1958.

Mais certains auteurs ont observé des homozygotes dont le diagnostic était sûr et qui vivaient adultes (MARCH et SCHLYEN 1952), avec une légère anémie ou même sans signe anormal et, dont les deux parents avaient un taux élevé d'Hb A₂. De même GABUDZA (1963) a rapporté, lui aussi, quelques observations, faites sur un grec, et un italien. Déjà en 1932, WHIPPLE avait fait l'autopsie d'un homme de 30 ans, mort d'anémie de COOLEY.

Actuellement plusieurs cas de Thalassémie homozygote ont été publiés où le taux d'Hb F était élevé, comportaient un tableau clinique de "thalassémie intermédiaire" c'est à dire atténué. HELLER, VINCENT (1965) ont décrit une patiente de 39 ans, ayant donné naissance à quatorze enfants avec quatre maris. Les grossesses s'étaient bien passées. Elle consultait pour une insuffisance cardiaque. Tous ses enfants étaient atteints d'une thalassémie mineure. Le taux d'Hb F de cette patiente était de 30 %. Au cours de l'enquête génétique, sa soeur âgée de 35 ans se révélait porteuse elle aussi d'une thalassémie homozygote avec 34 % d'Hb F et son enfant était porteur d'une thalassémie hétérozygote. Ces deux sujets ne présentent aucun signe clinique anormal.

On peut donc en déduire deux conclusions de cette observation :

1 - que le pronostic peut ne pas être toujours aussi grave que dans les cas classiques ; il est déterminé dans les formes majeures par la somme de l'expressivité propre des deux gènes thalassémiques associés.

2 - que si la patiente en question avait été atteinte de deux mutations thalassémiques hétéro-allèles et non allèles, l'absence de "crossing-over" (sur un total de 12 enfants) aurait une probabilité au plus égale à 5 % environ. Ceci démontre une distance chromosomique de ces deux gènes, inférieure à $x = 22$ unités, d'après la relation $0,05 = (1 - x)^{12}$.

Tout concorde donc pour dire que les deux gènes thalassémiques sont allèles.

GARSON, BATTLE et LEWIS (1960) décrivaient eux aussi un adulte atteint d'un syndrome clinique atténué avec un taux d'Hb F de 80 %. Ses parents et ses deux enfants avaient un syndrome clinique thalassémique. Leur taux

d'Hb F se situait autour de 15 %. Ces données montrent que le malade était véritablement un thalassémique homozygote.

L'élévation du taux d'Hb F n'a pas donc un rôle aggravant, contrairement à ce qui était soutenu, il n'y a guère longtemps, son effet serait plutôt atténuateur.

Pronostic :

Le pronostic de la thalassémie majeure chez les enfants atteints pose pour les pays intéressés de vrais problèmes sociaux et économiques.

La longue et pénible évolution de cette maladie, appelle des soins bien particuliers, à la diligence d'un personnel médical très expérimenté, qui doit pour mieux agir obtenir la coopération totale de la famille. Les infections fréquentes sont maintenant jugulées par les antibiotiques.

Les transfusions constituent le traitement principal mais on sait qu'elles engendrent facilement des réactions fébriles ; celles-ci sont actuellement atténuées par l'utilisation du sang déleucocyté.

Les transfusions, de plus, ont l'inconvénient d'entraîner une dépression médullaire. Elles suscitent, en outre, des réactions immunitaires.

Mais le risque principal est l'hémochromatose qui est inéluctable au bout de 100 transfusions environ.

WOLMANN (1964) pense qu'en maintenant la formule sanguine, par des transfusions, les complications seraient moindres (insuffisance cardiaque, gros foie, développement somatique).

L'administration du fer comme traitement de l'anémie est absolument contre-indiqué ici.

L'hémochromatose engendre vite une sidérose myocardique, endocrinienne et hépatique.

Les agents chélateurs du fer semblent nous apporter un espoir. L'E.D.T.A. et le B.A.L. ne sont pas très efficaces.

Le D.T.A.P., produit récent, a été utilisé par SEPHTON SMITH dans la thalassémie en 1962. Ce composé permettrait une élimination appréciable de fer dans les urines, lorsque la saturation de la sidérophiline est haute. Son efficacité serait meilleure chez les malades plus âgés. En outre, il élimine en même temps d'autres métaux, comme le calcium et le magnésium qui peuvent avoir de graves répercussions.

La desferrioxamine (CIBA lab.) éliminerait autant de fer que la D.T.P.A. Elle n'aurait pas l'inconvénient d'éliminer le calcium (NEILSON, 1963) ; BANNERMAN n'a pas trouvé de réduction importante de l'absorption intestinale par des expériences au fer 59. Récemment, on a montré qu'elle éliminait le fer dix fois plus chez l'hémochromatosique que chez le sujet normal et d'une manière même assez indépendante de la saturation de la sidérophiline (ROSEN et TULLIP 1966).

L'Ecole portugaise du professeur DAPORTA a récemment proposé à Paris l'usage de l'association acide lipoïque - acide folique pour cette affection.

La conduite thérapeutique reste ouverte. SEPHTON SMITH (1963) a suggéré l'utilisation de transfusions associées simultanément au D.T.P.A. et à la desferrioxamine en cure discontinue. Pour l'instant, mieux vaut se contenter de maintenir le taux d'hémoglobine entre 7 et 10 grammes.

Outre les transfusions, on doit prévenir une carence en acide folique au moindre doute, car, on sait la fréquence de celle-ci.

La splénectomie :

Déjà en 1955, COOLEY et PENBERTHY l'avaient proposée.

Les résultats en sont souvent clairs :

- Sur le plan clinique, beaucoup d'auteurs ont signalé la réduction du nombre de transfusions.

- Sur le plan hématologique, la durée de vie des hématies est nettement augmentée (SMITH, ERLANDSON, STERN et SCHULMAN 1960).

Mais les complications habituelles de l'affection ne sont pas diminuées pour autant, et le risque infectieux post-opératoire augmente, au point qu'une antibiothérapie prophylactique, pendant deux ans, est recommandée (SMITH).

Les indications actuelles de l'intervention sont l'importance du nombre de transfusions, une très grosse rate, et une hémolyse principalement splénique, confirmée aux isotopes.

ooOoo

LA β THALASSEMIE HETEROZYGOTE

Les enfants, les adolescents et les adultes hétérozygotes sont beaucoup plus nombreux que ceux atteints de la Thalassémie majeure. On individualise deux types de forme hétérozygote, bien qu'il existe toute une gamme de tableaux intermédiaires : les formes mineures et les formes minimales.

A - Les formes mineures répondent au syndrome de RIETTI, GREPPI, MICELI.

Le tableau est celui d'une anémie moyenne, la rate est hypertrophiée de façon variable, avec parfois des crises douloureuses abdominales ; la déformation du crâne a des degrés variables : soit faciès mongoloïde associant des yeux bridés, des pommettes saillantes, un nez court ; soit simplement crâne olympien, aux bosses saillantes, soit encore crâne en pain de sucre. Les images radiographiques sont plus discrètes que dans la Thalassémie majeure.

On observe parfois des ulcères de jambes, d'autres fois des calculs vésiculaires ; l'atteinte générale est habituelle : simple fatigabilité ou plus ou moins importante, trouble du développement staturo-pondérale chez l'enfant, dysmorphie pseudo-rachitique. La puberté est retardée, allant du simple juvénilisme à un infantilisme vrai dysharmonique.

Du point de vue neurologique certaines observations relatent des troubles nerveux à type de dégénérescence hépato-lenticulaire, d'épilepsie, etc ...

L'E.E.G. est perturbé dans 90 % des cas (MALLARME).

On voit que cette symptomatologie correspond à celle d'une thalassémie majeure atténuée. Elle varie avec le terrain du sujet (moins grave chez les nègres).

Biologiquement, on a signalé une cholestérolémie basse, une albumine diminuée et une gamma-globuline augmentée.

Séméiologie hématologique

L'anémie est hypochrome, microcytaire, avec une proportion importante de cellules cibles, d'hématies ponctuées basophiles dans le sang.

L'anisocytose, la poikilocytose et l'anisochromie sont très modérées. On ne retrouve pas les schizocytes, ni l'érythroblastose sanguine.

La réticulocytose est discrète. Elle augmente au cours des crises hémolytiques.

On retrouve toujours les critères diagnostiques que sont l'érythroblastose médullaire, et l'augmentation de la résistance globulaire. Le fer sérique est augmenté. S'il est normal, une épreuve à la desferrioxamine peut entraîner une forte sidérurie.

Les études au Chrome 51 montrent une $T \frac{1}{2}$ des hématies de 23 jours.

CROSBY et KONRAD 1964, utilisant le fer 59 et par des comptages "in-toto", ont trouvé que l'absorption du fer était élevée. Le fer disparaît rapidement du plasma, sa réapparition dans les globules rouges est moindre que normalement 50 à 60 % en quinze jours (N 85 %).

Caractère de l'hémoglobine dans les formes mineures

1 - Hémoglobine A₂

Son élévation au cours des formes mineures a été trouvée par KUNKEL au taux de $5,11 \% \pm 1,30 \%$ (N = $2,5 \% \pm 0,30 \%$) d'après cet auteur.

D'une manière générale, le taux d'Hb A₂ est exceptionnellement élevé en dehors de la thalassémie. Aussi l'élévation du taux d'Hb A₂ est devenu un critère diagnostique de la thalassémie hétérozygote.

Si le rapport $\frac{\text{Hb A}}{\text{Hb A}_2}$ est élevé à $\frac{20}{1}$ (normal = $\frac{40}{1}$, ce n'est pas une preuve que le gène thalassémique augmente, en soi, ce rapport. En effet si ce rapport est double de sa valeur normale, il devrait y avoir une valeur moitié du taux d'Hb A ; or dans les formes mineures, il n'y a pas de diminution marquée de la synthèse de l'Hb A. D'autre part, si l'Hb A₂ est répartie uniformément dans tous les globules rouges, le calcul montre alors une teneur globulaire moyenne assez élevée, en valeur absolue, qui atteint $1 \mu \gamma$ (N = $0,75 \mu \gamma$).

Donc c'est par une élévation d'Hb A₂ en valeur absolue que s'exprime le gène thalassémique et dont la traduction est une augmentation de la teneur corpusculaire de cette fraction.

D'après WEATHERALL, il existait une corrélation inverse entre la concentration globulaire moyenne en hémoglobine et le taux d'Hb A₂, indiquant que lorsque la première diminue, le taux d'Hb A₂ croît. Ces résultats indiquent que, dans la thalassémie hétérozygote, c'est la valeur absolue en Hb A₂ qui est augmentée et non pas la valeur relative par rapport à l'Hb A, comme c'était le cas dans les formes majeures.

C'est pourquoi certains ont conclu qu'il y avait activation des deux gènes commandant la synthèse des deux chaînes δ .

D'ailleurs, les doubles hétérozygotes, pour la β thalassémie et pour l'Hb A₂¹, ont des taux élevés d'Hb A₂ et d'Hb A₂¹ à la fois (CEPPELLINI 1959, HUISMAN, PUNT et SCHAAD 1961) ; cela indique que non seulement le gène δ , situé sur le même chromosome que le caractère thalassémique, est activé (effet cis) mais que le gène δA_2^1 , situé sur le chromosome homologue, est aussi activé à distance (effet trans).

Des enquêtes statistiques étudiant la ségrégation des taux d'Hb A₂ de manière intra et inter-familiale, ont montré qu'il existait une ségrégation des taux d'Hb A₂, soumise à un contrôle génétique.

Des taux élevés d'Hb A₂ chez un hétérozygote définissent la forme "β THALASSEMIE Hb A₂ HAUTE" ou THALASSEMIE type 1.

Le taux d'Hb A₂ ne présente pas de relation, ni avec le taux d'Hb F, ni avec les données hématologiques (FESSAS 1959).

On en a même été jusqu'à attribuer trois gènes m, a, f, respectivement aux anomalies morphologiques cellulaires, à l'élévation d'Hb A₂ et à celle de l'Hb F, de façon à montrer leur relative indépendance (CEPPELLINI). Même si ces bases ne sont pas démontrées on peut les admettre en pratique.

Le génotype m A f serait spécifique de certaines populations.

2 - L'HEMOGLOBINE F

En plus de l'utilisation de la dénaturation alcaline comme méthode de dosage de l'Hb F, la répartition de l'Hb F dans les hématies doit être recherchée ; elle s'effectue par la méthode d'élution acide, qui vide l'hématie de son hémoglobine, sauf de l'hémoglobine foetale ; celles qui n'en contiennent pas apparaîtront "vides".

Dans la thalassémie, l'Hb F est répartie de manière hétérogène parmi les globules rouges ; cette notion est caractéristique (COOLEY 1960). De plus la méthode est très sensible.

1 - Dans la "β thalassémie hétérozygote Hb A₂ haute" le taux d'Hb F est habituellement normal.

Sur 130 cas, sept sujets seulement, dans la statistique de BEAVEN, ELLIS et WHITE, avaient un taux de 5 % d'Hb F, et un seul sujet avait un taux de 15 %.

Des études semblables de FESSAS et WEATHERALL montraient que la moyenne de l'Hb F était de 2 % environ chez les hétérozygotes ; la courbe statistique le prouvait aussi, mais elle montrait cependant quelques sujets ayant des taux plus forts.

Il semblait exister là aussi, comme pour Hb A₂, une certaine tendance à la ségrégation intra-familiale ; le taux d'Hb F est donc déterminé, en partie, d'une manière génétique (WEATHERALL).

Ce taux n'est pas en rapport avec celui de Hb A₂.

2 - Néanmoins certains sujets présentent une "β Thalassémie hétérozygote Hb A₂ haute" avec des taux élevés d'Hb F. Chez plusieurs de ces sujets on retrouvait un seul des deux parents porteur du gène thalassémique avec des taux d'Hb A₂ élevés et des taux d'Hb F normaux.

AKSOY 1959, présentait un hétérozygote, ayant 40°/° d'Hb F et 10°/° d'Hb A₂.

Son tableau clinique était grave. Un de ses parents présentait une "β thalassémie Hb A₂ haute" avec Hb F normale.

D'autres exemples semblables, ont été décrits sur des malades italiens par BIANCO et SYLVESTRONI, qui trouvaient des taux d'Hb F atteignant même 80°/°.

De son côté, ZUELSER signalait que la gravité était fréquente s'il y a association d'Hb A₂ et Hb F élevées.

La variabilité du taux d'Hb F dans ces familles souligne le rôle des facteurs génétiques, le rôle des facteurs environnants.

3 - WEATHERALL a cependant décrit une mère noire ayant 17°/° d'Hb F et 4,2°/° d'Hb A₂, atteinte d'un syndrome thalassémique clinique, l'étude génétique montrait qu'elle n'avait hérité que d'un seul gène thalassémique et que ses enfants avaient reçu ce gène et possédaient eux aussi des taux élevés d'Hb F.

4 - Le fait que dans la β thalassémie homozygote le taux d'Hb F est très élevé, alors que dans la forme hétérozygote, le taux d'Hb F est généralement normal, prouve que la présence de deux gènes thalassémiques stimule fortement la synthèse des chaînes γ.

Ajoutons à ce qui précède qu'en cas de difficultés d'interprétation des taux des fractions hémoglobiniques, il faut recourir facilement à la recherche de la paternité par l'étude des groupes sanguins, dans le cadre de l'enquête génétique.

Sur le plan diagnostic, il existe des syndromes cliniques autre que la Thalassémie, dans lesquels le taux d'Hb A₂ est élevé.

Ainsi, dans les anémies mégaloblastiques JOSEPHSON ; mais le taux diminue après le traitement à la vitamine B12.

Hb A₂ peut être augmentée dans les derniers mois de la grossesse demandant à faire un nouveau dosage, après l'accouchement (RUCKNAGEL 1961).

Le taux d'Hb F peut être aussi élevé ailleurs :

- Dans l'anémie de Francoi ; mais alors, on observe une leucopénie et une thrombopénie.

- Dans la splénomégalie myéloïde et la myélofibrose ; mais il existe alors des altérations des lignées blanches et plaquettaires (BEAVEN 1960).

- Dans l'érythroleucose de GUGLIELMO, le taux d'Hb F peut être élevé, on y retrouve aussi un fer sérique élevé et des anomalies morphologiques globulaires simulant fortement une thalassémie. Cependant la lame de sang montre des cellules blanches immatures et les parents sont normaux.

- Dans les anémies réfractaires de l'adulte, on peut même noter, un taux d'Hb F élevé réparti de manière hétérogène dans les globules rouges.

- Enfin dans les leucémies un tel fait a été signalé.

On réalise donc l'importance dans tous les cas, de l'enquête génétique approfondie.

Autres formes β Thalassémie

a - β Thalassémie avec taux normal d'Hb A₂ et taux élevé d'Hb F
(Thalassémie type 2) ou F-Thalassémie.

Elle a été observée en Italie, en Grèce par FESSAS, et aux Etats-Unis chez des Noirs Américains.

Le tableau clinique est celui d'une légère anémie avec hypochromie, microcytose et augmentation de la résistance globulaire.

De même que pour la thalassémie Hb A₂ haute, on a démontré une ségrégation génétique, des taux élevés d'Hb F, permettant l'individualisation d'une autre forme de gène β thalassémique " β thal, Hb A₂ normal".

Le rapport $\frac{\text{Hb A}}{\text{Hb A}_2}$ reste ici normal.

L'état homozygote du gène " β thal, Hb A₂ normal" est connu.

De même l'association de ce gène avec le gène " β thalassémique avec Hb A₂ haute" constitue une forme de thalassémie majeure accompagnée de taux d'Hb F de 90%, et cliniquement d'anémie et d'hépatosplénomégalie (observation de ZUELZER, sur des Italiens ; de FESSAS sur des grecs, dont l'un d'eux n'avait pas du tout d'Hb A). Elle ne peut être reconnue que par l'étude des parents hétérozygotes, chacun pour une des deux formes du gène.

Le gène " β thalassémique avec Hb A₂ normale" a été également retrouvé en association avec le gène S.

Le fait essentiel qui distingue la forme hétérozygote du gène " β thalassémique avec Hb A₂ normale", de la persistance héréditaire de l'hémoglobine normale, est la répartition hétérogène de l'hémoglobine foetale dans les globules rouges, pour la première, alors que dans la seconde, la répartition d'Hb F est homogène. Ces données sont obtenues par la méthode d'élu-tion acide. En outre, la symptomatologie clinique et hématologique est présente dans la première et pratiquement absente dans la seconde.

On a même découvert, par l'enquête parentale et grâce à la technique d'élution acide, des doubles hétérozygotes pour le gène " β thal Hb A₂" et pour le gène "persistance héréditaire de l'Hb F", dont les taux d'Hb F étaient de 75% (WHEELER, KREVANS 1961).

En outre, ce gène peut être totalement asymptomatique chez le porteur : HELLER, VINCENT, YAKULIS, etc ... (1965), ont présenté un enfant atteint d'une thalassémie majeure ayant des taux d'Hb F 63% et d'Hb A₂ de 2%. L'enquête génétique a révélé que la mère bien portante, portait un seul gène " β thal avec Hb A₂ haute" et le père dont la paternité avait été vérifiée par groupe sanguin, avait des taux normaux d'Hb A₂ et d'Hb F (0,8%).

Cependant la technique d'élution acide appliquée aux globules rouges du père montrait de nombreuses hématies qui conservaient un aspect foetal, à l'opposé des hématies de sujets normaux.

Ceci fournissait la preuve étonnante que le père portait le gène thalassémique " β thalassémique Hb A₂ normale".

On en conclut l'intérêt supérieur de la technique employée ici, à celle de l'évaluation de la fraction alcaline résistante.

b - β Thalassémie avec "Hb A₂ et Hb F normaux"

Certains auteurs ont observé des taux normaux d'Hb A₂ et d'Hb F, dans des familles de sujets présentant des syndromes thalassémiques (BEAVEN, STEVENS et ELLIS, WHITE 1964).

BERNINI aurait isolé une anémie de COOLEY, chez un enfant dont le père avait des taux normaux d'Hb A₂ et d'Hb F.

Il s'agit probablement, chez cet enfant, comme dans les cas précédents, d'une association du gène thalassémique, à une hémoglobinoso β .

Mais ces observations nous montrent que certaines variétés du gène thalassémique peuvent s'accompagner de taux normaux d'Hb A₂ et d'Hb F.

c - Une grande variabilité des taux d'Hb A₂ et d'Hb F est signalée, parfois au cours de plusieurs générations d'une même famille :

Ainsi, tel ce sujet porteur du gène "β thalassémique avec Hb A₂ haute" reçu de son père, avait son propre taux d'Hb A₂ normal et un taux d'Hb F très élevé alors que le père et les enfants, porteurs du même gène, avaient des taux d'Hb A₂ élevés et des taux d'Hb F à peu près normaux (PEARSON et NOYES 1964).

En conclusion, nous voyons qu'il reste beaucoup à faire dans le domaine de la thalassémie pour dissocier les effets génétiques de l'effet des facteurs environnants et pour élucider ces observations passionnantes.

8 Thalassémie :

PESSAS et STOMATOYANOPOULOS (1962) ont relaté une observation à propos d'un sujet porteur d'une thalassémie β ayant une absence totale d'hémoglobine A₂, et atteint d'un syndrome thalassémique.

L'étude des enfants de ce sujet semblait montrer par la suite aux auteurs que le sujet était atteint d'une double hétérozygotie pour le gène "β thalassémie Hb A₂ normal" et pour le gène "α thalassémie", c'est à dire de déficience en chaîne γ.

CHOREMIS (1964) a trouvé quelques familles en Grèce, dont plusieurs membres avaient des taux d'Hb A₂ très bas. Des homozygotes pour ce gène ont été signalés également en Grèce.

Evolution et pronostic des formes mineures

L'évolution est compatible avec une longue survie d'autant meilleure que la maladie s'est révélée plus tardivement.

Le pronostic est fondé sur l'intensité de l'anémie, la survenue d'une lithiase biliaire, et la greffe d'une infection, ainsi que sur les troubles du développement somatique, psychique et sexuel chez l'enfant, chez la femme enceinte, on a signalé la déficience en acide folique.

LA THALASSEMIE MINIME DE BIANCO ET SILVESTRONI (1946)
ou "trait thalassémique"
ou encore microcytémie constitutionnelle.

La thalassémie minime touche aussi l'hétérozygote.

Cliniquement inapparente, son diagnostic est souvent une découverte de laboratoire à l'occasion d'un examen systématique de routine.

Hématologiquement, la lame de sang montre une anisocytose, une microcytose, des cellules cibles. La résistance osmotique est augmentée.

On rencontre assez souvent des formes polyglobuliques. Leur fréquence est à connaître, car elle expose aux erreurs de diagnostic ; mais cette polyglobulie est hypochrome avec une valeur globulaire basse et une teneur corpusculaire en hémoglobine basse ; le taux d'hémoglobine y est inférieur à 14 g par 100 ml, et la résistance osmotique est augmentée. Le chiffre des globules rouges oscille autour de 6.000.000 avec microcytose.

Enfin, le fer sérique est normal ou augmenté. Il s'agit donc de polyglobulie hypochrome, microcytaire et hypersidérémique.

Sur le plan diagnostique une maladie de VAQUEZ, en période hémorragique, réalise aussi une anémie hypochrome ; mais dans ce cas le fer sérique est abaissé.

Enfin, une forme clinique est à mentionner, c'est l'anémie hypochrome sidéropénique. On lui retrouve parfois une cause, tel un saignement répété, mais parfois on ne peut qu'invoquer une carence alimentaire, lors de la mise des malades, au traitement martial ces formes se transforment progressivement en polyglobulies hypochromes hypersidérémiques. Dans plusieurs cas le diagnostic avait été porté avant d'atteindre ce stade évolutif.

La distinction de formes mineures et minimes, bien que théoriquement valable, n'élimine pas toute la gamme de formes intermédiaires qui peuvent se rencontrer, en raison des différents degrés d'expressivité du gène.

A titre indicatif, nous citons l'exemple des sujets porteurs d'une forme minime et qui deviennent anémiques en vieillissant.

Outre, les anomalies morphologiques et l'hyper-résistance osmotique, toutes les formes minimes ont un caractère distinctif fondamental : l'augmentation du taux d'Hb A₂.

ooOoo

REPARTITION DU GENE THALASSEMIE DANS LE MONDE

Il est difficile d'évaluer la fréquence exacte du gène thalassémique dans certaines contrées du monde, en raison des difficultés qu'éprouve la médecine moderne à pénétrer dans ces régions.

Ainsi, ce sont les critères d'anomalies hématologiques de résistance osmotiques qui sont les plus couramment utilisées pour le dépistage des formes asymptomatiques, alors qu'on devrait généraliser l'utilisation de l'électrophorèse, pour doser le taux d'Hb A₂ et d'Hb F.

CHERNOFF distingue dans cette étude de répartition du gène deux phases :

1 - La phase I

Elle comprend la période allant de 1925 à 1950, pendant laquelle on connaissait trois grands foyers :

1 - Aux ETATS-UNIS où furent faites les études de COOLEY à Détroit, DAMESCHEK à Boston. SMITH à New-York et NEEL à Rochester. Mais l'origine du gène était : italienne, grecque, syrienne. On trouvait également aux U.S.A. des chinois de Canton et de Hong-Kong, atteints de thalassémie.

2 - En EUROPE, sur les rives de la Méditerranée, d'où, le nom de la maladie, SILVESTRONI et BIANCO ont décrit des foyers dans le delta du Pô, atteignant jusqu'à 25% de la population. En SICILE, à Ferrare, en GRECE (CAMINO-PETROS), à MALTE, en CRETE, à CHYPRE, en SYRIE, en TURQUIE, en EGYPTTE, en ESPAGNE, au PORTUGAL, en PALESTINE (deux juifs venus de la

Mer Caspienne, et qui étaient porteurs du gène) de nombreux cas ont été trouvés.

3 - Le troisième foyer se situe en CHINE, aux INDES et aux PHILIPPINES.

4 - On a trouvé également des foyers ectopiques en ARGENTINE, au BRESIL, au MEXIQUE, en ANGLETERRE (CALLENDER) en ECOSSE, en ALLEMAGNE, en FRANCE, en BULGARIE, et chez les noirs américains.

La découverte princeps de la thalasso-drépanocytose par SILVESTRONI et BIANCO, bientôt suivie par celles d'autres doubles hétérozygotisme-thalassémie-hémoglobinoïde (HbE-HbG-HbD) ont permis de faire des progrès dans l'étude de la répartition géographique de la maladie.

2 - La phase II

Elle se distingue de la phase I par l'apparition de l'électrophorèse en gel d'amidon, pour doser Hb A₂. C'est grâce à elle qu'on a dépisté les doubles hétérozygotes.

Par cette technique, CAPPELLINI et PITZUS trouvèrent un foyer en SARDAIGNE.

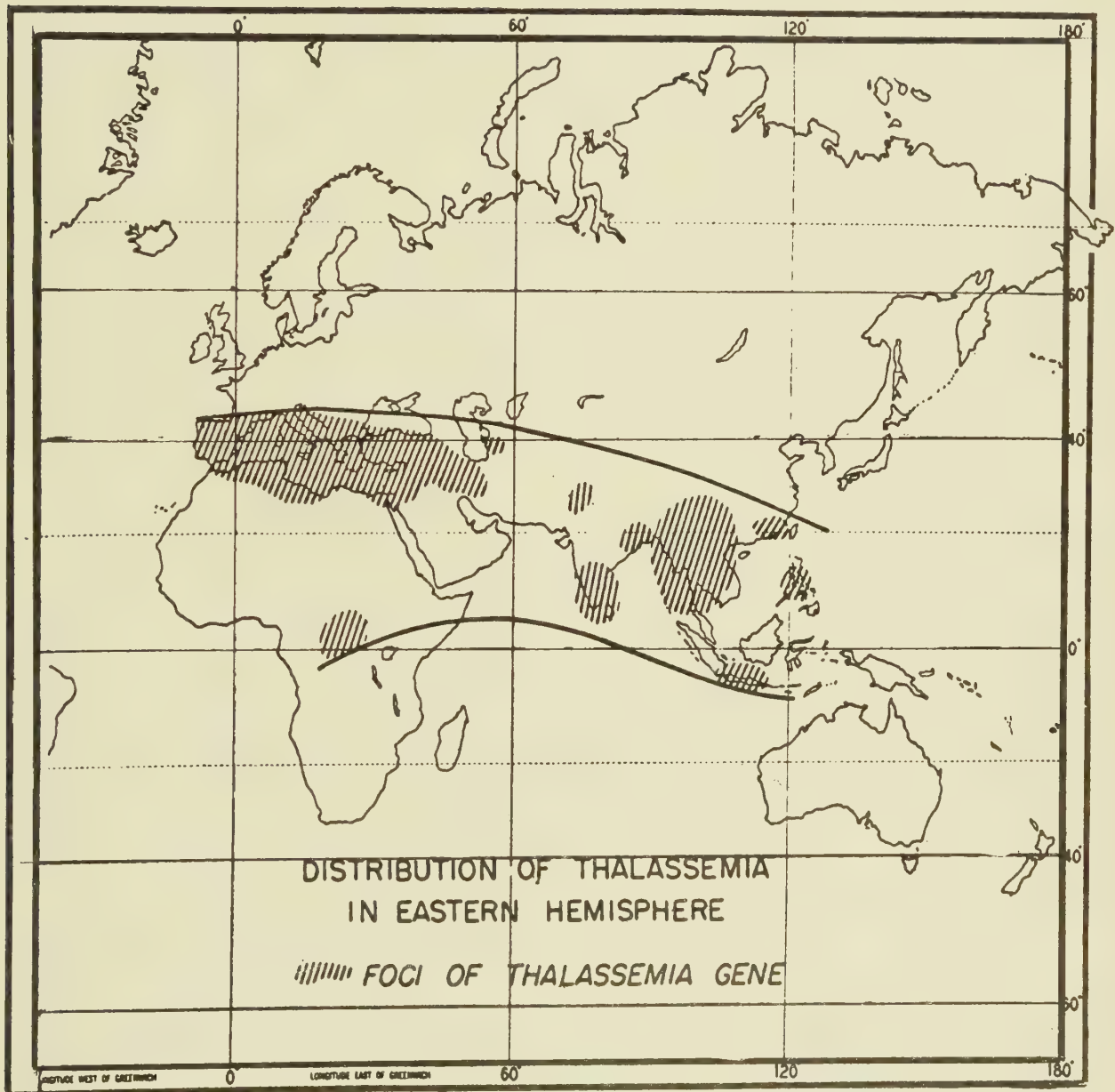
Dans le Sud de l'ITALIE, en SICILE et en GRECE, on a rencontré l'association thalassémie Hb F, puis en INDONESIE, en MALAISIE, en BIRMANIE et en INDOCHINE, on a montré la fréquence élevée du gène thalassémique.

Plus récemment, on a trouvé l'association thalassémie Hb H, en CHINE, en THAILANDE et en INDONESIE, CEYLAN (DE SILVA).

On a décrit des foyers thalassémiques en IRAN, en TURQUIE (POUILLA et AKSOY 1959), en ISRAEL avec une fréquence variable suivant les origines, et une courbe plus élevée chez les BneiIsrael d'origine indienne (RAMOT et ABRAHAMOV 1964) a été rapportée.

En AFRIQUE, des cas rares ont été enregistrés au CONGO Belge, en ALGERIE, en TUNISIE et en AFRIQUE du Sud.

Distribution du gène thalassémique (selon CHERNOFF)



La bande thalassémique

Quant aux fréquences des différentes formes de thalassémie : Thalassémie Type 1 et Type 2 (Hb F haute), elles font encore l'objet de plusieurs investigations. GOUTTAS montre en Grèce une très grande prédominance de la thalassémie avec Hb A₂ haute sur celle avec Hb A₂ normale.

On voit qu'il y a une large bande de fréquence maxima. Il est difficile de s'expliquer pourquoi le gène thalassémique se trouve aussi diversement répandu. Les migrations en masse, le commerce, auraient transporté la tare de la CHINE vers la Méditerranée ou inversement.

Pour BRUMPT, le gène serait né en INDOCHINE, et colporté en EUROPE, tandis que pour SCHEBA, l'origine serait arménienne, et se serait étendu de l'Ouest vers l'Est. Il n'est pas impossible qu'il y ait eu des migrations préhistoriques, à la dernière glaciation, au moment du réchauffement de la terre, la transformation de pays fertiles en déserts, auraient provoqué la migration massive de populations mélanodermes qui se seraient soit négri-fiées, soit blanchies.

Le Professeur Jean BERNARD (1964) écrivait : "La grande aire actuelle de la Thalassémie, dont le grand axe s'étend de TANGER à CANTON, demeure mystérieuse ; naissance en CHINE et propagation vers l'Ouest, le long de la route de la soie et des caravanes ou à une époque plus haute ; rôle des migrations turques ; naissance en GRECE et extension vers l'INDE, au fil des conquêtes d'Alexandre ; existence indépendante de foyers méditerranéens et chinois ; existence en Asie mineure d'un foyer initial commun ; entre ces diverses hypothèses, il est difficile de choisir."

Il n'est pas impossible d'ailleurs, que des mutations spontanées se produisent de temps à autre, d'un lieu à un autre.

Reste à expliquer ces foyers ectopiques : FRANCE, ANGLETERRE, ARGENTINE, etc ... qui sont en dehors de la bande de CHERNOFF.

D'aucuns pensent à la possibilité de métissage entre peuples, à la limite de cette bande territoriale avec les peuples voisins à des époques lointaines ou plus rapprochées (EUROPE de l'Est, et U.R.S.S., AMERIQUE du Sud, AMERIQUE Centrale, BRESIL, CUBA) aurait répondu à ces zones d'étalement du gène. Cette hypothèse expliquerait les cas vraiment autochtones d'Europe Occidentale et Nordique.

BADETTI, GIRAUD et ORSINI ont fait remarquer que la zone d'extension de la thalassémie correspondait assez exactement à la zone d'élection d'un des trois groupes raciaux qui constituent la race blanche : le groupe des Dolichocéphales bruns.

GIRAUD et ORSINI pensent que l'existence de foyers asiatiques ne constitue pas un argument contre cette hypothèse, car les asiatiques touchés par la tare ne sont pas des mongols purs, mais des métis de Mongols et de dolichocéphales bruns.

En 1942, GATTO avait mis en cause le rôle possible d'une mutation dans certaines méditerranéennes, à l'origine des syndromes thalassémiques.

C'est surtout les caractéristiques du faciès des sujets atteints qui ont corroboré cette hypothèse. En effet, les anomalies morphologiques des os de la face observés dans certaines populations où la thalassémie est fréquente, présentent des similitudes avec les anomalies de structure des os de la face, de squelettes datant de l'époque paléolithique ; ainsi, GRAZIOSI en 1947, retrouvait dans la grotte de médecine en Sicile, des caractères des zygomatiques sur les vestiges de squelettes évocatrices de thalassémie.

Les recherches paléolithiques ont abouti à la reconnaissance de lésions squelettiques similaires dans des races, complètement éteintes de nos jours, telles celles des populations anciennes autochtones d'Amérique, comme les Incas du Pérou (WILLIAMS 1929), les Indiens mayans du Yucatan (MOORE). De même, les restes squelettiques trouvés dans l'Arkansas montrent eux-aussi des lésions typiques de syndromes hémopathiques méditerranéens ou d'anémie de COOLEY.

La disparition de ces peuplades pourrait bien être en relation avec ces hémopathies, dont les formes homozygotes auraient été à l'origine. En raison de la forte consanguinité qui devait exister dans les tribus anciennes, les formes dominantes se seraient ainsi multipliées au point d'en éteindre la race.

La découverte contemporaino de certains sujets thalassémiques natifs du Mexique, ayant les mêmes anomalies structurales osseuses que les anciens Aztecs, laissent à penser que ces sujets seraient les survivants d'une race disparue, (WALLACE 1935).

Une ostéoporose a été observée sur des vestiges squelettiques par ADACHI en Egypte (1904). Même des squelettes gallo-romains ont montré de telles lésions.

CAPONNETTO 1939 sur des squelettes du musée anatomique de Catania en Sicile, il trouvait, sur 25 squelettes, la moitié avec une ostéoporose et avec des poils de brosse.

La Thalassémie en France

Quelques cas de thalassémie dans des familles de souche française, ont été décrits par certains auteurs. Si apparemment les sujets atteints sont natifs de provinces françaises, il est nécessaire dans tous les cas de s'enquérir sur d'éventuels croisements de race, pas toujours, facilement avoués.

CHRISTIAENS et CARLIER (1950) ont publié l'observation d'un sujet d'origine picarde atteint d'une double hétérozygotie-thalassémie et hémoglobinoase anormale non précisée. La thalassémie fut retrouvée chez la mère et le frère du malade.

VERGER (1958) a publié le cas d'un enfant d'origine charentaise.

Dans un rapport récent, BOUSSER (1965) étudiant la thalassémie en France, fait remarquer que cette affection héréditaire ne s'observe pas dans la population d'origine autochtone. Le plus souvent, il s'agit d'immigrants italiens, de travailleurs nord-africains venus depuis la dernière guerre.

Ce sont surtout des porteurs de "trait thalassémique" qu'on a l'occasion de rencontrer en France. Déjà, en 1962, BOUSSER avec ses collaborateurs, BOISIN, MALLARME et ALISON ont eu l'occasion de discuter de la thalassémie hétérozygote à Paris.

L'origine "méditerranéenne" écrit BOUSSER est retrouvée facilement chez la plupart des sujets ; en plus des sujets italiens et nord-africains, il l'a constatée chez des sujets des pays du Moyen-Orient et chez des grecs.

De plus, pour cet auteur, le noyau autochtone corse est contestable. Certaines de ses observations sont très suggestives à cet égard. Ainsi, trois cas sont décelés chez des Français de souche, dont la famille était depuis plusieurs générations en Algérie. De même, il signale aussi le cas d'une jeune fille native de l'Ile-de-France, dont un de ses parents proche, nous a confié qu'elle était en réalité la fille d'un italien ... Un des malades d'origine alsacienne apprenait qu'un de ses grands-parents était un enfant

abandonné à l'Assistance Publique ... bien souvent l'ascendance italienne dans la lignée maternelle est retrouvée chez des sujets au nom bien français.

Quel souvenir en gardera-t-on "dans 2 ou 3 générations" écrit aussi BOUSSER.

En conclusion : de son enquête, le Professeur BOUSSER estime que le nombre d'étrangers porteurs du "trait", qui ont fait souche actuellement en France est suffisant pour entraîner une multiplication des cas de thalassémie majeure. Tout au plus, il conseillera, alors, à tout individu porteur du trait, de ne pas épouser un compatriote avant de s'assurer que celui-ci n'est pas aussi atteint de la tare.

La Thalassémie en Grèce

Selon GOUTTAS (1961), la Grèce est un pays où le gène dépasse le taux de 8°/o; ce taux a été d'ailleurs confirmé dans une enquête de FESSAS.

Cette fréquence irait croissante, et GOUTTAS attire l'attention sur les mesures eugéniques qu'en découlent.

En outre, l'expression du gène revêt plusieurs formes.

Sur 400 porteurs du gène, GOUTTAS relevait :

193 sujets ayant un taux d'Hb A₂ élevée,

171 sujets ayant un taux d'Hb A₂ et Hb F élevées,

6 sujets ayant un taux d'Hb F élevée et Hb A₂ normale.

Problèmes soulevés par la fréquence du gène

Pour expliquer la fréquence du gène à des taux élevés dans certaines populations malgré la gravité des formes homozygotes, il faut supposer l'existence d'un avantage sélectif du gène à l'état hétérozygote. C'est dans ce sens que de nombreux auteurs ont attribué à certaines données observées, le rôle déterminant de cet avantage sélectif.

Ainsi, les sujets thalassémiques sont plus résistants que les sujets normaux au paludisme. HALDANE (1949), CEPPELLINI (1957) trouvaient une plus grande fréquence de la tare dans les plaines et une plus basse fréquence en montagne, inversement à la distribution du paludisme.

HALDANE a souligné la résistance de ces sujets, surchargés en fer en cas de déplétion ferrique, c'est à dire en cas de brutale hémorragie, grâce à une absorption de fer supérieure à celle des sujets normaux.

ALLISON trouvait aussi un taux d'haptoglobine très faible, voire nul chez les hétérozygotes.

Mais ce dernier auteur étudiait des sujets africains en zone où sévissait le paludisme ; après les crises, il ne trouvait pas du tout d'haptoglobine (hémolyse intra-vasculaire) ; or, la perte du fer secondaire à cette hémolyse nécessite une hyperabsorption digestive compensatrice. Aussi, ALLISON conclut que les effets du métabolisme du fer sur la sélection génique sont secondaires, le facteur principal étant le paludisme.

LEHMANN 1959 a établi un parallèle entre la baisse d'Hb F, au cours des premiers mois de la vie et la cessation de la protection de l'enfant par les anticorps maternels contre le paludisme.

FESSAS (1963) observait la baisse du cholestérol et des β lipoprotéines, chez les thalassémiques, ce qui les rendraient plus résistants vis à vis de l'athéromatose.

La fréquence du gène morbide dans certaines régions est telle qu'elle pose de véritables problèmes sociaux et certains auteurs ont écrit qu'il est indispensable de mettre en oeuvre un dépistage prénuptial de cette affection pour éviter la naissance d'homozygotes.

L'intérêt racial d'une telle prophylaxie se comprend aisément quand on sait que dans certaines régions la mortalité par anémie de COOLEY est supérieure à celle de la tuberculose (GIRAUD et ORSINI), exemple : Delta du Pô où la fréquence atteint 30°/environ.

ooOoo

LES ASSOCIATIONS DE LA β THALASSEMIE

La Thalasso-drépanocytose

Les cas authentiques de cette association sont rares. Celle-ci a été décrite par CHOREMIS et ZANNOS 1957, chez les grecs, par AKSOY en 1959 chez des turcs par CHATTERJEA en 1959 chez les asiatiques, par ROCHE, DERRIEN, DIACONO, LAURENT, REYNAUD, ROUX et BRANGIER en 1956 chez des Nords-Africains, par WATSON, WILLIAMS en 1963 chez des Noirs d'Afrique.

Il existe deux foyers dans le monde : l'un en Méditerranée, Grèce, Turquie, (AKSOY), Afrique du Nord (ROCHE et DERRIEN) résultant du croisement de blancs porteurs du gène drépanocytaire et porteurs de thalassémie, l'autre aux Antilles et en Jamaïque où ont pu se produire des unions entre sujets sicklémiques d'ascendance africaine et chinois du sud, porteurs de Thalassémie.

C'est BIANCO et SILVESTRONI (1944) qui décrivirent, sous le nom de microdrépanocytose, cet état. Au point de vue clinique, les symptômes sont très variables. Dans les cas graves on retrouve, comme dans la drépanocytose homozygote, l'anémie, l'ictère, les syndromes abdominaux douloureux et les crises paroxystiques de déglobulisation, la pâleur des conjonctives, le retard de croissance.

L'hépatosplénomégalie est fréquemment rencontrée. Au fond d'oeil, on retrouve parfois l'aspect tortueux et dilaté des vaisseaux de la rétine. L'atteinte cardiaque est rare.

Des modifications radiologiques des os proches de celles de la thalassémie ont été décrites allant parfois jusqu'à la nécrose aseptique de la tête fémorale (GOLDING 1959).

Mais tous les degrés existent jusqu'à l'absence complète de symptômes, et le diagnostic peut être établi à la suite d'une électrophorèse inopinée.

Hématologiquement, on y trouve soit des formes sévères, avec anémie marquée, forte réticulocytose, soit des formes atténuées, voire sans anémie. Il existe une hypochromie et une microcytose, des cellules cibles, mais les hématies falciformes ne sont pas très fréquentes ; le test de falcification in vitro au métabisulfite de soude en fait la preuve. La résistance osmotique est augmentée. Le volume et la teneur globulaire en hémoglobine sont réduits.

La demi vie des hématies au chrome 51 est réduite de moitié. La scintigraphie du foie et de la rate montre qu'ils participent tous deux à l'hémolyse.

Les caractères de l'hémoglobine

La présence du gène thalassémique s'accompagne d'une baisse de l'activité de la synthèse de la chaîne βA . On note chez les doubles hétérozygotes un taux très élevé d'Hb S et un taux très bas d'Hb A, contrairement à ce que l'on observe chez les hétérozygotes pour la sicklémie seule.

C'est pour expliquer ce fait qui se retrouve, en outre, dans toutes les associations de β thalassémie et d'hémoglobinoase β que les auteurs ont employé le terme d'"interacting thalassémie" qui correspond à l'allélisme des deux gènes ; la non "interacting thalassémie" avec Hb A_2 normale que ZUELZER, NEEL et ROBINSON (1956) ont décrite, comme variété de thalasso-drépanocytose est en fait une alpha thalassémie associée.

L'étude de l'hémoglobine

Le taux d'Hb A existant dans cette association varie suivant les sujets oscillant entre 30% et une absence totale. Il semble que les valeurs se répartissent en deux groupes :

l'un, où on ne trouve pas du tout d'Hb A, l'autre où l'on trouve des taux compris entre 15 et 25%.

Les enquêtes tendent à montrer que les deux variétés décrites touchent des groupes raciaux différents :

1 - la forme "sans production d'Hb A" a été relatée par SINGER en 1957, chez des noirs, par JOSEPHSON en 1958 chez des noirs, par ZUELZER en 1959 chez des grecs et par CHATTERJEA en 1959 chez des Hindous.

Dans un cas décrit par CHATTERJEA, le taux d'Hb F trouvé atteignait 19%.

L'absence complète d'Hb A, dans plusieurs cas décrits, a été prouvée par électrophorèse sur bloc d'amidon et par chromatographie sur colonne, et plus récemment par électrophorèse sur gel d'amidon à deux dimensions (WEATHERALL 1964).

2 - la forme "avec production d'Hb A", les groupes touchés ici étaient des Italiens (HILL 1962), des Africains, des Chinois (WENT et MAC-IVER 1958), et des Turcs (AKSOY 1963).

Dans cette forme cependant, la variabilité du taux d'Hb A, dans un même groupe racial, fait supposer l'action des facteurs environnants en plus de celle des facteurs génétiques.

Ainsi, sont apparues deux entités caractérisant le mécanisme d'action du gène β thalassémique :

la forme "sans production d'Hb A" et la forme "avec production d'Hb A".

Bien que rien, cliniquement et hématologiquement, ne distingue les parents des sujets atteints de ces deux formes et que l'on puisse les rencontrer dans une même population, cette conception tend à s'affirmer. La comparaison, entre le taux d'Hb A et la symptomatologie clinique des doubles hétérozygotes montre qu'une relation existe entre eux.

Ainsi, la gravité de l'affection croît à mesure que le taux d'Hb A diminue ; les taux d'Hb A très faibles s'accompagnent de tableaux voisins de ceux de la drépanocytose homozygote alors, que des taux plus élevés d'Hb A s'accompagnent d'un tableau clinique atténué.

La fragilité globulaire est une conséquence de la pauvreté de ces cellules en Hb A ; ainsi GRIGGS et HARRIS 1956, démontraient que "in-vitro" la falciformation des hématies se faisait pour des taux d'oxygène plus bas qu'habituellement lorsque la quantité d'Hb A contenue dans ces cellules était plus faible.

De même, la viscosité sanguine croît pour des tensions d'oxygène moins basses que celles nécessaires pour obtenir la même élévation avec des hématies de drépanocytose seule (COOLEY 1964).

Le taux d'Hb A₂ subit aussi des variations. Il peut s'élever de 3 à 30°/°. Il est plus haut dans la forme "avec production d'Hb A" (AKSOY 1963).

Sa répartition est hétérogène dans les hématies (SHEPHERD et COOLEY 1962).

Le taux d'Hb F est élevé dans cette association, et peut atteindre 10 à 15°/°. Il est réparti, à l'élution acide de manière hétérogène dans les hématies comme dans la thalassémie.

Il ne semble pas exister de corrélation entre le taux d'Hb F, et sa répartition dans les deux formes "avec et sans Hb A".

Transmission héréditaire des deux gènes

Les différentes observations publiées montrent que le gène β thalassémique et le gène S se comportent comme deux allèles ou tout au moins comme deux gènes étroitement liés.

Les enfants d'un double hétérozygote β thal-S sont :

- soit atteints d'une forme mineure de thalassémie,
- soit hétérozygotes pour le gène S seul.

Les enfants normaux et doublement atteints d'un sujet double hétérozygote, pour thal-S que COHEN avait rencontrés en 1959, ne provenaient sûrement pas d'un crossing-over. Cette "non interacting thalassémie" était en fait une alpha-thalassémie associée.

CEPPELLINI 1962 observait un sujet normal, provenant d'un croisement, d'un double hétérozygote "S"-thalassémie avec un sujet normal. C'est le seul cas probable, sur soixante observations, de "crossing-over", probable, si toutefois la paternité, dans ce cas, était authentique.

Les observations futures nous donneront plus de données sur le rapport des gènes. A présent, nous avons la preuve que les deux gènes précédents sont étroitement liés.

La ségrégation du gène β thalassémique dans les familles s'effectue en conservant ses formes d'expression suivant le taux d'Hb A_2 . Cela est illustré par l'observation de MILLICA et RUSSO qui comportait un double hétérozygotisme β thal -S.

Ces auteurs présentent un enfant ayant reçu de sa grand-mère maternelle, par l'intermédiaire de sa mère le gène " β thalassémie Hb A_2 haute", et de son père le gène S. Cet enfant avait une symptomatologie sévère, bien que les résultats de l'électrophorèse laissent prévoir un meilleur pronostic : Hb A = 25%, Hb S = 50%, Hb F = 20% et Hb A_2 = 5%.

Le père était double hétérozygote pour le gène S et pour le gène " β thalassémie Hb A₂ normal", et de la forme "sans production d'Hb A".

On voit ici la ségrégation nette des formes du gène thalassémique.

Mais le plus important est la production d'Hb A chez l'enfant et non chez le père. Cela nous indique les deux manières d'expressivité du gène thalassémique, sensibilisé par l'association avec Hb S, pour réaliser les deux formes "avec et sans production d'Hb A".

Evolution et Pronostic

Le terme "thalassémie intermédiaire" fut utilisé par CHINI et VALERI pour désigner un des "syndromes hémopathiques méditerranéens" qui étaient dus à l'association du gène thalassémique et d'un gène d'une hémoglobino- β .

Mais cette dénomination a été ensuite utilisée pour désigner des syndromes thalassémiques homozygotes atténués.

L'évolution est on le sait conditionnée en partie par le taux d'Hb A. Cependant il existe des exceptions, ainsi ZUELZER, en 1959, décrivait deux frères grecs atteints de la forme "sans production d'Hb A", l'un sévèrement atteint, l'autre très peu atteint.

Cependant, tous les cas ne sont pas des formes atténuées et les formes sévères sont fréquentes. Ainsi, chez l'enfant, le retard de croissance, le retard pubertaire sont fréquents. Chez l'adulte des cas de stérilité ont été signalés (SILVESTRONI et BIANCO 1955). La carence en acide folique est fréquente au cours de la grossesse.

Il peut se produire également dans les formes graves des infarctus rénaux avec hématuries (SMITH et CONLEY 1954), des ostéomyélites, des ostéonécroses de la tête fémorale. On a également vu dans cette association des ulcères de jambes, des accidents dus à l'hypoxie au cours de vols aériens, des infections à salmonelles, plus fréquemment qu'ailleurs.

Cependant, SINGER dans sa statistique trouvait seize adultes n'ayant jamais été malades, ainsi qu'un vieillard sans aucun antécédent pathologique.

Au point de vue thérapeutique l'usage des transfusions est limité, par leur danger d'augmenter la viscosité sanguine. Elles doivent être évitées, sauf en cas de crises aplasiques ou d'ulcères de jambes persistants.

ooOoo

Double hétérozygotisme thalassémie hémoglobinoase C

Rappelons que l'état homozygote de l'hémoglobinoase C se caractérise par une symptomatologie plus atténuée que celle de la drépanocytose homozygote, et parfois il n'y a pas d'anémie. Il faut mentionner la fréquence de cellules-cibles à l'examen hématologique.

L'état hétérozygote est latent cliniquement. Le taux d'hémoglobine C dans cet état est inférieur à celui d'Hb A.

Le double hétérozygotisme S-C fréquemment rencontré aux Etats-Unis nous donne des indications sur l'expressivité des deux gènes. En général, le taux d'Hb C dépasse celui d'Hb S. Cela signifie, que la vitesse de synthèse de Hb S est plus ralentie que celle de Hb C. De plus, ce double hétérozygotisme s'accompagne d'une élévation de la fraction d'Hb F, comme si à l'opposé du sujet normal les hémoglobines anormales ne parviennent pas à réprimer les gènes gamma.

L'association thalassémie-Hb C a été décrite en 1954 par ZUELZER et KAPLAN, sur un enfant de six ans, issu d'une famille noire, dans laquelle la mère était porteuse du "trait thalassémique" et le père du gène C. Ces auteurs observaient des cellules-cibles, une hyper-résistance osmotique, une microcytose chez l'enfant atteint. Celui-ci présentait une anémie sérieuse, inexplicable par un simple trait thalassémique ; la présence d'hémoglobine C, faisait conclure aux auteurs, à l'interaction des deux gènes, pour expliquer le tableau clinique. De plus, l'enfant avait une soeur jumelle, qui était cliniquement indemne.

En 1954, également SINGER, KRAUS et HEBERT présentent une famille dans laquelle, la mère était double hétérozygote thal-Hb C, le père porteur du trait thalassémique et deux enfants atteints d'une thalassémie homozygote, un, atteint du gène C, deux, atteints de thal-C, et un absolument normal.

Cela a amené ces auteurs à conclure que le gène C et le gène S n'étaient pas allèles.

De nombreuses observations ont été décrites, ensuite, sur des italiens, sur des nord-africains (PORTIER, TRAVERSE 1960, BOUSSER), sur des turcs, sur des antillais. La symptomatologie est en règle modérée ; ce double hétérozygotisme est beaucoup mieux supporté que le précédent.

On retrouve quelquefois un syndrome digestif, avec fièvre, une splénomégalie, qui, elle, peut être volumineuse et entraîner des pesanteurs, en particulier chez les nords-africains.

Dans le sang, on observe une anémie, une diminution du volume globulaire et de la teneur globulaire en hémoglobine. Les réticulocytes sont augmentés ; la résistance osmotique globulaire est élevée.

On note une fréquence appréciable de cellules cibles.

Les autres anomalies morphologiques globulaires de la thalassémie, sont souvent absentes.

L'hémoglobine C ($\alpha_2 \beta_2^{6 \text{ lys}}$) atteignait des taux très importants allant jusqu'à 90% ou même davantage chez les Italiens, l'hémoglobine A ne semblait pas absente, même en présence d'un taux élevé d'hémoglobine F.

La séparation à l'électrophorèse de l'hémoglobine A₂ et C, n'étant pas très bonne, l'étude de la ségrégation des 2 gènes, β thalassémie et C nécessitant le dosage de l'Hb A₂ a soulevé des difficultés d'interprétation (PORTIER 1960).

L'hétérozygotisme étudié est intéressant, car nous possédons des observations évidentes, faisant la preuve d'un crossing-over, entre le gène thal et le gène C.

1 - Cas de père C-thal et mère normale ayant donné naissance à deux enfants normaux (GOSKEL et TARTAROGLU 1961), et à des enfants C-thal.

2 - Cas de père C-thal et mère hétérozygote pour thal seul ayant donné deux enfants normaux (GOSKEL 1961), et trois enfants normaux dans une autre observation de PORTIER 1960 ont été dépistés d'un mariage semblable.

3 - Cas de mère C. thal, père hétérozygote pour Hb A₂¹ ayant donné naissance à un enfant C. thal (WEATHERALL).

Ces cas rares ont prouvé l'existence de recombinaisons entre les deux gènes C et α thal, et affirme leur proximité chromosomique car le nombre de familles étudiées (24) est grand en comparaison des rares crossing-over supposés. En outre, l'authenticité n'a pas toujours été testée par groupes sanguins.

DOUBLE HETEROZYGOTISME E -Thalassémie

En 1954, MUNICH relatait le premier des cas des syndromes thalassémiques en Thaïlande.

Puis après, CHERNOFF et ses collaborateurs découvraient l'hémoglobine E. En 1954, ce dernier auteur présentait des sujets doublement atteints et NA NAKORN (1959) en faisait une description précise.

Différents auteurs ont décrit cette association dans de nombreux pays d'Asie (VELLA, CHATTERJEA, DE SYLVA, LIE INJO).

Le tableau est en général assez sévère. Il s'agit d'enfants de petite taille, avec grosse splénomégalie, et s'ils n'étaient pas asiatiques, on penserait à une thalassémie majeure. Ils meurent fréquemment dans l'enfance de crises aplasiques, ou de complications favorisées par le manque d'hygiène, et la dénutrition (carence en Fer, acide folique).

Dans le sang, on trouve en plus de l'hypochromie et des cellules cibles, de nombreux ovalocytes.

L'hémoglobine E : elle a la structure $\alpha_2 \beta_2^{26} \text{lys}$. Son taux dans cette association, ajouté à celui de l'Hb F totalise presque toute l'hémoglobine.

Le taux d'Hb F varie entre 5 et 90%, suivant les malades (CHERNOFF).

L'Hb A est totalement absente dans la plupart des cas. Cependant, LIE INJO en a trouvé dans ses observations.

Les informations manquent sur le taux d'Hb A₂, car elles se dissocient mal d'Hb E, à l'électrophorèse, sur un gel d'amidon, à pH 8,5. La chromatographie sur résine échangeuse d'ions peut permettre leur séparation.

Les enquêtes familiales ont montré que ces sujets doublement atteints reçoivent le gène thalassémique d'un des parents et le gène E de l'autre parent ; cela signifie que les deux gènes sont étroitement liés (CHERNOFF).

Quelques cas de "crossing-over" ont été signalés ; deux enfants normaux sont nés du croisement d'un double hétérozygote et d'un sujet portant une thalassémie mineure (LIE INJO 1959).

La détermination de Hb A₂ et de Hb F chez 65 sujets appartenant à 11 familles atteints de β thalassémie, a montré que dans 10 familles le taux d'Hb A₂ était élevé et dans la 11ème les taux d'Hb A₂ étaient normaux, mais les taux d'Hb F étaient assez élevés.

Par conséquent, on retrouve les deux principaux types de β thalassémie ; de plus, on peut considérer l'élévation d'Hb A₂ comme un critère assez valable pour le diagnostic de β thalassémie en Thaïlande.

Répartition géographique

La fréquence de l'hémoglobine E seule atteint 32% dans le nord-est de la Thaïlande. On retrouve cette hémoglobine chez les Khmers du Cambodge. Son association avec la thalassémie résulterait dans ces pays du métissage de chinois porteurs du gène thalassémique et de thaïlandais ou de cambodgiens porteurs de l'Hb E.

En Thaïlande, le gène E est plus répandu que le gène thalassémique.

En outre, dans ce pays, des cas d' α Thalassémie ont été décrits (LIE INJO).

Double hétérozygotisme - β Thalassémie - Hémoglobinoase J.

SEYDENSTRCKER, HORTON, PAYNE et HUISMANN en 1961 en ont relaté trois cas.

Hématologiquement les sujets présentaient quelques signes de thalassémie, un taux Hb J (hémoglobine à chaîne β anormale, migrant plus vite de Hb A) de 80%, un taux d'Hb A de 15% et des taux élevés d'Hb A₂ ; les sujets avaient reçu les deux gènes respectivement de chacun de leurs parents.

SANGHRI, LEHMANN (1958) ont décrit une "non interacting thalassémie" associée à Hb J où le taux d'Hb J était inférieur à Hb A. Mais cette Hb J était peut-être une variante de la chaîne α .

Double hétérozygotisme - β Thalassémie - Hémoglobinoase D.

Là encore, il y a deux formes d'hémoglobinoase D : D α , D β .

L'hémoglobine D β (confondue à l'électrophorèse avec Hb S), a été trouvée en association avec la thalassémie par HYNES et LEHMANN, chez une Iranienne qui présentait des signes cliniques d'anémie.

Cette malade ne possédait que de l'Hb D.

L'enquête génétique ne trouvait pas de thalassémie évidente chez le père, alors que la mère était porteuse du gène D β .

Deux familles de Bombay ont été présentées par SUKUMARAN SANGHRI et NAZRETH.

Dans une des deux familles, les trois malades étudiés ne possédaient pas du tout d'Hb A, donc de forme génétique " β Thal, sans production d'Hb A". L'un d'entre eux avait un taux d'Hb A₂ élevé, un autre, un taux d'Hb F élevé et le troisième n'avait que l'Hb D. Ils étaient cependant tous trois aussi atteints cliniquement.

Double hétérozygotisme - β Thalassémie - Hémoglobinoase G.

SCHWART, ZUELZER et NEEL en font, en 1959, l'observation.

HILL et SWENSON, en 1962, posent la structure $\alpha_2 \beta_2^{(7 \text{ gly.})}$ et l'appellent Hb G_{San José}.

Les deux sujets étudiés avaient une symptomatologie clinique très modérée. Plusieurs signes hématologiques anormaux mais surtout 80% d'hémoglobine G et 5% d'hémoglobine A₂, avec en plus des composants mineurs non héminiques, et une absence totale d'Hb A. Un de leurs parents étudiés, était normal (Hb A₂ normal) et en admettant la légitime paternité, on pouvait conclure à un crossing-over. En outre, un des sujets avait eu par croisement avec un hétérozygote drépanocytaire S, un enfant porteur d'une thalasso-drépanocytose, sans production d'Hb A. Ces faits démontrent que c'était la forme " β thal" sans production d'Hb A produite, qui était transmise génétiquement.

Association β thalassémie - hémoglobine α - hémoglobinoase β :

SCHWARTZ, SPEAT, ZUELZER et NEEL, en 1957, ont signalé une famille dans laquelle on rencontrait la triple association bêta thalassémie, hémoglobinoase G (variante de la chaîne alpha) et drépanocytose.

Double hétérozygote -Thalassémie-Hémoglobine L.

SILVESTRONI et BIANCO 1963, pensaient en décrivant le cas d'un enfant atteint, qu'il s'agissait d'un homozygotisme pour le gène β thal, et d'un hétérozygotisme pour L. Il y avait présence d'une fraction hémoglobinique mineure, et le taux d'Hb L était inférieur à celui de Hb A. Tout s'expliqua lorsque l'on s'aperçut que l'Hb L était une variante de la chaîne α et la fraction mineure avait donc la structure $\alpha_2^4 \delta_2$.

Cette association a été rapportée par SILVESTRONI, au sujet de deux Italiens (1964). L'auteur a pensé qu'il s'agissait d'une variante de la chaîne alpha sur le fait que le taux de l'hémoglobine N était inférieur au taux de l'hémoglobine A. Ces sujets étaient très gravement atteints. Leurs pères étaient porteurs d'un gène N et leur mère d'une thalassémie mineure avec "Hb A₂ haute".

Cette discordance entre les taux observés et la première symptomatologie est difficile à expliquer, si ces sujets n'avaient qu'un gène β thalassémique.

L'hypothèse qu'il avaient dû recevoir un autre gène thalassémique de leur père, probablement différent de la mère, reste possible.

Cette observation nous fournit la preuve de l'hétérogénéité du gène thalassémique.

Double hétérozygotisme - β Thalassémie - Hémoglobino- δ .

Nous avons déjà vu dans l'étude des doubles hétérozygotes β thalassémie-drépanocytose que le gène β thal et S se comportaient comme des allèles, ou mieux, étaient étroitement liés.

Nous avons aussi vu que grâce à un gène marqueur, variant du gène δ (le gène A₂¹), on a pu obtenir une recombinaison entre le gène β thalassémique et le gène A₂¹. Un enfant sur onze est né normal, indemne à partir d'un parent affecté de la β thalassémie et de la variété Hb A₂¹, ce fait prouve que le gène δ se trouve très lié sur le même chromosome au site du gène β , siège de la mutation thalassémique.

En conclusion de tout ce qui précède :

1 - Les doubles hétérozygotes semblent nous apporter la preuve de l'existence de deux formes d'activité du gène β thalassémique.

Lorsque l'activité de celui-ci est "révélée" par l'association avec une hémoglobine β , cela nous permet de définir ses deux formes : "avec ou sans production d'hémoglobine A".

Sans cette association, les malades atteints d'un seul gène β thalassémique ne pourraient pas être rattachés à l'une de ces deux formes.

2 - L'absence totale d'Hb A nécessite pour être affirmée des techniques modernes d'électrophorèse. Elle a, cependant, pu être confirmée par l'électrophorèse sur gel d'amidon et par la chromatographie sur colonne ; bien que plusieurs observations n'aient été faites qu'avec électrophorèse sur papier.

3 - On peut en déduire un certain parallélisme entre l'élévation du taux d'hémoglobine A chez ces sujets et la meilleure allure clinique (avec Hb C), tout se passe comme si la fragilité des globules rouges était déterminée par le taux d'hémoglobine anormale.

4 - Les taux relatifs d'Hb A, bien plus faibles que celui de l'Hb anormale, à l'inverse de ce qui se passe chez les sujets hétérozygotes non thalassémiques, pour une hémoglobinoïse nous indiquent que le cistron β thalassémique est fortement inhibé, et l'est beaucoup plus que le cistron β de l'Hb muté.

5 - Les études génétiques chez ces doubles hétérozygotes nous apportent la preuve de crossing-over, mais il est trop prématuré, pour conclure sur les distances des gènes recombinés.

6 - Il faut reconnaître, par ces études, la complexité et le polymorphisme de la β thalassémie.

7 - On remarque que ces doubles hétérozygotes présentent un taux d'Hb F qui est en général supérieur à celui qu'on relève chez un thalassémique hétérozygote, et ce, bien que de tels sujets présentent tous deux un seul gène thalassémique. Tout se passe comme si la production d'Hb anormale, dans le 2ème cas, ne puisse pas réprimer la synthèse de l'Hb F, comme semble le faire l'Hb A dans le premier cas.

Thalassémie et hémoglobine "LEPORE"

En 1958 à Boston, GERALD et DIAMOND découvraient une famille dans laquelle un parent et quatre enfants étaient porteurs cliniquement d'une thalassémie majeure et à l'électrophorèse, d'une nouvelle variété d'hémoglobine migrant presque comme Hb S.

Ils désignaient cette hémoglobine du nom de la famille (Lepore). D'autres cas furent découverts dans la même ville, d'où le nom : Hb Lepore (Boston).

En d'autres points du globe, furent trouvés des sujets porteurs d'une hémoglobine aux mêmes propriétés, ainsi FESSAS, STOPATOYANOPOULOS et KARAKLIS (1962) l'observèrent chez les grecs.

GERALD et DIAMOND, chez les Italiens, BEAVEN, GRATZER et STEVENS (1964) chez les Turcs chypriotes et NEEB et JONKIS (1964) sur des Papous.

FESSAS a émis l'hypothèse que l'hémoglobine G de SILVESTRONI et BIANCO serait une hémoglobine Lepore.

I - L'hémoglobine Lepore (Boston)

- Les sujets hétérozygotes pour l'hémoglobine Lepore sont cliniquement normaux ; hématologiquement ils ont des caractéristiques de thalassémie mineure et une hyper-résistance osmotique ; une petite hémolyse est présente chez eux. Le taux d'Hb F est élevé entre 6 et 7%, et peut atteindre des taux plus hauts, et un taux d'Hb A₂ normal.

L'hémoglobine Lepore, dont la distinction ne peut être faite, avec certitude que par électrophorèse en gel ou bloc d'amidon est d'environ 10%.

- Les sujets hétérozygotes pour l'hémoglobine Lepore et la β thalassémie, présentent une anémie sévère, un ictère splénomégalie et un faciès mongoloïde, radiologiquement les mêmes anomalies osseuses et hématologique-

ment les mêmes caractéristiques et la même érythroblastose sanguine que celles que l'on rencontre dans l'anémie de COOLEY.

Une évolution souvent mortelle dans l'enfance a été signalée : (PEARSON 1959, WOLF et IGNATOU 1963).

A l'électrophorèse, on trouve un taux d'Hb F de $60\% \pm 15\%$, environ 30% d'Hb A, $2\% \pm 1$ d'Hb A₂, et 6% d'Hb Lepore.

II - L'hémoglobine Lepore (Hollandia)

L'observation en a été faite par NEEB, BEIBOER, JONKIS et MULLER, chez une famille de Nouvelle-Guinée.

CURTAIN pense que cette variété est fréquente en Nouvelle-Guinée.

- L'état hétérozygote est identique à celui vu précédemment ; l'électrophorèse et la chromatographie sur colonne carboxy-méthyl-cellulose, montrent un taux d'Hb Lepore de $10\% + 3$.

- L'état homozygote se présente, à tous points de vue, comme une anémie de COOLEY. On est frappé par l'absence totale d'Hb A, le très faible taux d'Hb A₂ ($0,3$ à $0,8\%$), démontrable seulement par chromatographie sur colonne ou électrophorèse en amidon, le taux d'Hb F était de 75% et celui d'Hb Lepore Hollandia de 25% .

Tout se passe comme si cette hémoglobinoase était une sorte de thalassémie.

III - Hémoglobine Pylos

FESSAS (1962), lui donna ce nom en raison de l'origine géographique des familles grecques observées. C'était une variante de l'Hb Lepore. Elle migre plus lentement à pH alcalin que l'Hb F, et comme l'Hb S en gel d'amidon pour un tel pH.

1 - Les sujets hétérozygotes pour l'Hb Pylos présentaient à part une splénomégalie, une apparence normale, le taux d'Hb Pylos oscillait entre 5

et 10⁰/, le taux d'Hb A₂, était normal, et le taux d'Hb F variable entre 1,5 et 15⁰/.

2 - Les doubles hétérozygotes pour Hb Pylos et β thalassémie présentaient un tableau de thalassémie majeure, avec une sévère anémie hypochrome. L'étude génétique affirmait la ségrégation séparée des deux gènes.

FESSAS signalait six cas mortels dans l'enfance.

A l'électrophorèse en gel agar, FESSAS trouvait un taux d'Hb F de 90⁰/ ; un taux d'Hb A₂ faible de 0,8⁰/, un taux d'Hb Pylos de 8⁰/, et une absence totale d'Hb A. En plus, il observait une fraction rapide pouvant être de l'Hb Bart's.

3 - Sujets doublement hétérozygotes pour l'Hb Pylos et Hb S.

Cliniquement, un des sujets décrits présentait un tableau de thalassémie majeure ; à l'électrophorèse sur papier et en gel d'amidon, il semblait s'agir d'une thalasso-drépanocytose, cependant l'utilisation de l'électrophorèse sur gel agar à pH acide et son association avec la chromatographie sur colonne, a permis de séparer l'hémoglobine Pylos de l'Hb S. Ainsi, le taux d'Hb S était élevé à 70⁰/, celui d'Hb A₂ de 0,9⁰/ et celui d'Hb Pylos de 10⁰/.

On pouvait remarquer le fait suivant :

le taux d'Hb F chez ce sujet était de 10⁰/ et son tableau clinique grave, tandis que chez l'autre sujet étudié par FESSAS, le taux d'Hb F était de 25⁰/ et le tableau clinique bénin.

Nous retrouvons encore ici, semble-t-il, le rôle protecteur joué par l'Hb F, vis à vis des globules rouges.

4 - Sujets homozygotes pour l'hémoglobine Pylos

Le seul cas connu a été décrit par FESSAS.

Le tableau clinique hématologique était celui d'une thalassémie majeure. Le sujet est mort à vingt ans.

A l'électrophorèse on trouvait une absence totale d'Hb A et 10% d'Hb pylos. Le taux d'Hb F dosé par dénaturation alcaline était de 75%. Il n'a pu être prouvé, aucune trace d'Hb A ni d'Hb A₂ à la chromatographie sur colonne (Amberlite I.R.C. 50) et à l'électrophorèse sur papier ou gel agar, à deux dimensions.

IV - Hémoglobine LEPORE (Cyprus)

BEAVEN, en 1964, présenta une famille dont une parturiente, consultait pour anémie de grossesse.

C'était une Turque cyprïote. Elle présentait des signes hématologiques de thalassémie mineure et à l'électrophorèse une petite fraction semblant être de l'Hb G. L'enfant engendré un peu plus tard présentait un tableau clinique sévère. Il possédait un taux d'Hb F de 70%, un taux d'Hb A₂ très faible, et une certaine quantité d'Hb Lepore (cyprus), et son père le gène "β thalassémique avec Hb A₂ haute". Sa constitution était donc celle d'un double hétérozygote.

De tout ce qui précède, on peut conclure à une similitude d'action du gène thalassémique et du gène pour l'hémoglobine Lepore. A l'état homozygote, ce dernier s'exprime également par un tableau clinique aussi sévère, et par un fort pourcentage d'Hb F, on retient aussi l'absence d'Hb A et d'Hb A₂.

Interprétation biochimique des hémoglobines LEPORE

Ces trois hémoglobines sont très voisines de l'Hb adulte. Elles en ont le même spectre ultra-violet et sont dénaturées par les alcalins. D'ailleurs, il est techniquement difficile de les séparer de l'Hb A.

- A l'électrophorèse sur papier à pH 9, Hb Lepore (Boston) n'est pas séparable de l'Hb A.

- A l'électrophorèse sur gel AGAR à pH acide l'hémoglobine Lepore (Boston) et Hb Pylos ne se séparent pas de Hb A.

- En chromatographie sur colonne Amberlite IRC 50, l'Hb Lepore (Boston) ne se sépare pas de l'Hb A et l'Hb Pylos ne se sépare pas de l'Hb A₂.

D'autre part, elles sont très voisines entre elles. Hb Lepore (Boston) et Hb Lepore (Hollandia) migrent aussi vite à l'électrophorèse sur bloc d'amidon à pH 8,5 (à peu près comme Hb S). Mais il existe quand même quelques différences entre elles à l'électrophorèse.

Du point de vue structural :

1 - Etude des chaînes α

Les chaînes α sont les mêmes que les chaînes α normales.

2 - Etude des chaînes non α

GERARD et COLLE (1961) ont effectué le "Finger-Print" de l'Hb Lepore Boston, et ont trouvé l'identité avec celui de l'Hb A₂.

L'analyse des différents peptides ne révélait pas de différence avec l'Hb A₂.

En 1962, BAGLIONI a trouvé certaines différences, en modifiant la technique chromatographique (solvant de HILL).

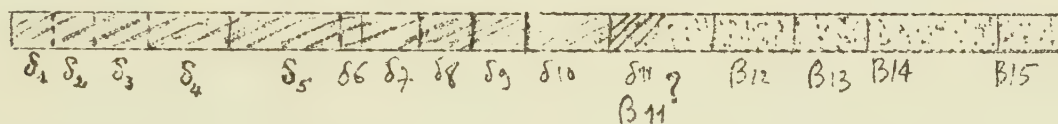
Hb Lepore Boston possédait le peptide β 13, qui appartient à la chaîne β de Hb A.

L'ionophorèse à une dimension des peptides de l'hydrolysate tryptique montrait l'absence du peptide habituel δ 13 de l'Hb A₂, dans cette hémoglobine.

Donc on pouvait en conclure que cette hémoglobine possédait à la fois des caractéristiques chimiques des chaînes β et δ .

L'extrémité N terminal était chimiquement identique à celle de la chaîne δ (premier peptide identique) et l'extrémité C terminal, en raison de la présence du peptide β 13, semblait identique à celle de la chaîne β .

Ainsi, cette hémoglobine serait composée d'un morceau de la chaîne δ et d'un morceau de la chaîne β .



L'étude du "core" trypsino-résistant par la chimotrypsine a montré que l'union des parties se faisait entre l'acide aminé 85 et l'acide aminé 115.

D'autre part, la vitesse de synthèse de l'Hb Lepore chez les hétérozygotes pourrait bien être la moyenne des vitesses de synthèse des chaînes β et δ (BAGLIONI 1963) ; elle est d'ailleurs d'une constance significative.

De même, pour l'Hb Lepore Hollandia, un peptide qui se trouvait, au finger-print, être à la place δ 5, se révélait avoir chimiquement la même composition que le peptide β 5. Il semble donc que l'Hb Hollandia aurait une portion de chaîne δ , plus courte que celle de l'Hb Lepore (Boston), et une portion de chaîne β plus longue.

Propriété physiologique de l'hémoglobine LEPORE

HUISMAN 1963 a montré que l'Hb A₂ possède plus d'affinités pour l'oxygène (effet BOHR, moins marqué) que Hb A ; l'Hb Lepore possède encore une plus haute affinité.

Conclusion :

Le gène commandant la synthèse de l'Hb Lepore est probablement une fusion des gènes β et δ . Cette synthèse est très lente comme l'attestent les faibles taux de cette hémoglobine habituellement rencontrée ; la synthèse de cette hémoglobine s'accompagne, en conséquence, de l'absence de synthèse d'Hb A et d'Hb A₂, chez l'homozygote. Le gène γ semble dérégulé puisqu'on observe dans presque tous les syndromes d'Hb Lepore, des taux élevés d'Hb F.

Par ailleurs, on a vu dans l'étude des doubles hétérozygotes β thalassémie-hémoglobine-Lepore que le taux d'Hb anormal est toujours très modéré, c'est la preuve de l'impossibilité pour le gène correspondant de compenser par une activité synthétique accrue le défaut d'Hb A dû au gène thalassémique, ou mieux la preuve de l'inhibition de synthèse propre au gène correspondant.

L'élévation du taux de Hb F est bien particulière aux syndromes comportant Hb Lepore. Les taux élevés que l'on rencontre chez les hétérozygotes Hb Lepore, dépassent de loin ceux rencontrés dans la thalassémie mineure. De même, dans les doubles hétérozygotismes Hb Lepore et S, par exemple le taux d'Hb F est plus élevé que dans la Thalasso-Drépanocytose.

D'autre part, dans les doubles hétérozygotismes associant l'hémoglobine Lepore à une hémoglobinoase comme nous l'avons vu dans un exemple précédemment, il y avait absence d'Hb A et d'Hb A₂. En supposant que cette absence soit confirmée par la suite, chez ces hétérozygotes, on peut en déduire l'existence d'une déficience de la synthèse des chaînes commandées par les gènes situés sur le chromosome homologue de celui qui porte le gène de la chaîne anormale de l'Hb Lepore.

Il semble, donc, que l'action de ce dernier gène se réprime à distance les deux gènes β et δ , du chromosome homologue (effet trans). Cela, nous rappelle ce que l'on observait dans une forme de la thalasso-drépanocytose : la variété "sans production d'Hb A".

ooOoo

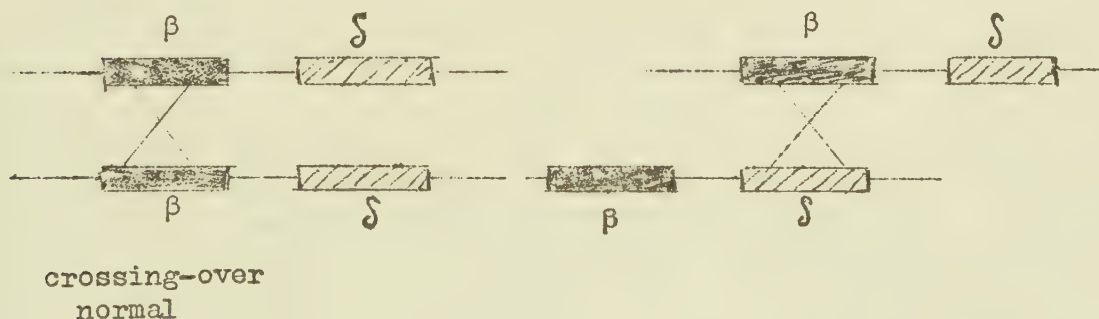
Interprétation génétique de l'hémoglobine LEPORE

La formation du gène commandant la chaîne de fusion anormale de l'Hb Lepore a intéressé au plus haut point les généticiens et les biochimistes et récemment François JACOB qualifiait ce processus de "véritable contrepèze biologique".

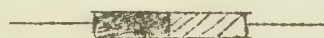
Nous savons que les gènes des chaînes β et δ , sont très proches sur les chromosomes. L'hémoglobine Lepore pourrait être expliquée par une délétion chromosomique allant d'un point du gène β à un autre point du gène δ .

Pour BAGLIONI (1962), le gène commandant la synthèse de l'Hb Lepore, résulterait d'un crossing-over inégal, se produisant entre deux régions équivalentes, l'une du gène β d'un chromosome, l'autre du gène δ du chromosome homologue.

Il existe, en effet, seulement huit différences d'acides aminés entre la chaîne β , et la chaîne δ . C'est pourquoi, on pense que le gène δ , proviendrait d'une duplication ancestrale du gène β . Ces données accroissent la possibilité de crossing-over inégal, car les points d'échange touchés par le crossing-over, seraient alors, les mêmes au niveau de l'ADN. L'hypothèse de BAGLIONI en est d'autant plus plausible.



gène de "fusion" de l'hémoglobine Lepore



et



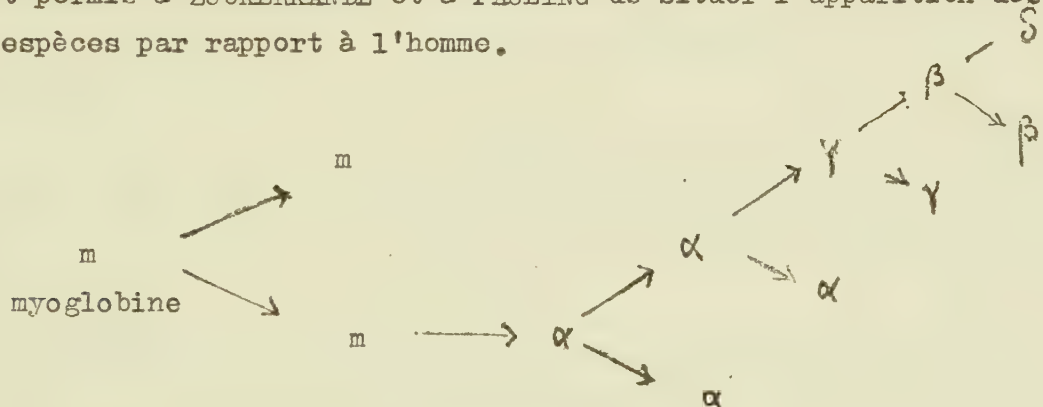
Schéma d'un crossing-over inégal

Le mécanisme du crossing-over inégal a d'ailleurs été repris par les chercheurs dans d'autres domaines que la Thalassémie.

Les biochimistes croient à la filiation des gènes de l'Hb par duplications successives, depuis 500 millions d'années qu'existent les vertébrés. En raison du nombre limité d'acides aminés qui les différencie ; de plus ils ont montré que chez une espèce animale inférieure (la lamproie), il n'y avait qu'une sorte de chaînes de l'hémoglobine.

Des arguments basés sur le nombre de différences des chaînes permettent d'établir un schéma de filiation des gènes correspondants.

Le gène de la chaîne δ aurait pris naissance par duplication à partir du gène de la chaîne β , le plus récemment (les deux chaînes ne diffèrent que par huit acides aminés), il y aurait environ 40 millions d'années ; la duplication à partir du gène de la chaîne α est beaucoup plus lointaine (Pré-Cambrien), car les différences avec les autres chaînes sont beaucoup plus nombreuses. Les différences d'acides aminés entre les chaînes des divers animaux ont permis à ZUCKERKANDL et à PAULING de situer l'apparition des différentes espèces par rapport à l'homme.



Duplication des chaînes de l'hémoglobine

Dans le cas d'une autre molécule, l'haptoglobine, SMITHIES (1962) pense également qu'un crossing-over inégal, entre les gènes de l'haptoglobine expliquerait la variation de longueur des chaînes α de l'haptoglobine.

PERSISTANCE HEREDITAIRE DE L'HEMOGLOBINE FOETALE

EDINGTON et LEHMANN 1955 ont distingué cette entité de la β thalassémie. Elle se caractérise par la persistance de taux important d'Hb F chez l'adulte, et sans altération sanguine, elle a été relatée en OUGANDA (JACOB et RAPER 1958), en Jamaïque (WENT et MAC IVER 1958) et aux ETATS-UNIS (HERMANN et CONLEY 1960).

1 - Les sujets homozygotes pour ce caractère ("P.H.F.")

Un seul cas a été cité (WHEELER et KREVANS 1961). Il s'agissait d'un enfant noir de 15 mois.

Cet enfant était porteur d'une anémie sans splénomégalie. Dans le sang, on trouvait seulement hypochromie, et microcytose. La thérapeutique martiale l'a guéri.

A l'électrophorèse sur gel d'amidon, on ne trouvait, et même actuellement alors que l'enfant a 5 ans, qu'un composant ayant la plupart des caractères de l'hémoglobine F (même le "Finger-print").

Cette hémoglobine est répartie de manière uniforme dans les globules rouges (technique d'élution acide de KLEIHAUER, BRAUN et BETKE 1957).

L'enquête génétique montrait que la mère de cet enfant portait le gène " β thalassémique" et aussi le gène "persistance héréditaire pour l'Hb foetale". Le père était hétérozygote pour le gène "persistance héréditaire hémoglobine foetale".

Cette donnée prouve que le caractère étudié se transmet de manière mendélienne.

2 - Sujets hétérozygotes

De nombreux cas ont été reconnus, parfois, par hasard. Cliniquement et hématologiquement, ils étaient indemnes.

Les globules rouges n'étaient même pas hypochromiques, rarement on y a observé des "cellules cibles".

Le taux d'Hb F était en moyenne de 25%. Cette Hb est répartie de manière homogène dans les globules rouges et ceci à l'inverse de ce qui existe dans la thalassémie mineure (SCHROEDER, STURGEON et BERGREN 1962 et CONLEY 1963), surtout dans la variété "Hb A₂ normale".

Les études statistiques de CONLEY (1963) semblent montrer qu'il n'y a pas de ségrégation génétique des valeurs d'Hb F.

Le taux d'Hb A₂ était plus bas que normalement.

3 - Double hétérozygotisme pour les gènes "PHF" et "S"

Ces sujets se portaient bien en général.

Le test de EMEL : il utilise du métabisulfite de soude et reproduit facilement la formation de cellules en faucilles.

On trouve à l'électrophorèse de l'Hb S, et de l'Hb F (20% $\pm$ 10%) de l'Hb A₂ mais l'Hb A est totalement absente. La présence d'Hb A prouve même qu'il y a erreur de diagnostic.

Ce résultat et l'étude génétique de différents croisements publiés prouvent que le gène se comporte comme un allèle des gènes S (BRADLEY et CONLEY 1960), C (CRAUS 1961 et CONLEY 1963), et β thal, (FESSAS et STOPATO-POULES 1964).

Le défaut de synthèse de l'hémoglobine normale associée à une absence de signes pathologiques suggère là encore que le taux élevé d'Hb F dans les globules rouges joue un rôle protecteur. CONLEY et CHARACHE en 1963 montraient que l'augmentation de viscosités "in-vitro" sous désoxygénation de globules rouges de doubles hétérozygotes S - P.H.F. était moins rapide que celle du mélange de globules rouges d'homozygotes S et de globules d'homozygotes pour P.H.F.

Tout laisse donc à penser que c'est le taux d'Hb F intra-cellulaire qui joue un rôle de protection.

4 - Doubles hétérozygotismes pour "P.H.F." et "C" ou "C - F"

Les neuf sujets étudiés ne présentaient presque pas de signes cliniques, sauf quelques "cellules cibles" et une petite hémolyse.

Leur taux d'Hb F est de 28% environ Hb C et A₂, qui ont la même vitesse de migration, à l'électrophorèse rendant compte du pourcentage restant.

L'enquête génétique révélait que les gènes "C" et "P.H.F." se comportaient comme des allèles.

5 - Double hétérozygotisme pour "P.H.F." et β thalassémie

C'est dans deux familles de noirs, une famille portugaise, une famille italienne, que cette association a pu être trouvée (KRAUSS, KOCH, BURCKETT, 1961).

Un sujet noir présentait un ictère et une splénomégalie. Dans le sang, il existait une anémie, une réticulocytose, la résistance osmotique était augmentée.

L'électrophorèse chez ce sujet montrait un taux de 70% d'Hb F, chez d'autres sujets le taux d'Hb F variait, entre 25 et 50%.

Le taux d'Hb A₂ était toujours élevé (4 à 5%).

L'étude génétique montrait que ces sujets recevaient les deux gènes respectivement de chacun des deux parents et cédaient soit l'un, soit l'autre à leurs enfants. Ces deux gènes se comportent donc comme des allèles.

Chez un autre malade grec, le taux d'Hb F était de 25%, soit la moitié, alors que la symptomatologie était plus sévère. Ce fait pose le problème de l'expression plus ou moins grande des gènes γ .

6 - Doubles hétérozygotismes pour F et la δ thalassémie

De tels cas observés sur des noirs américains montraient une absence totale de Hb A₂.

7 - Association H.P.F. et Hémoglobine A₂¹

Le sujet étudié avait hérité chaque caractère de chacun de ses parents, et son taux d'hémoglobine Hb A₂ était nul (KRAUSS 1962).

CONCLUSIONS :

1 - Il est important de distinguer la persistance héréditaire de l'Hb F, d'une thalassémie mineure, avec des taux normaux d'Hb A₂. Bien que le taux d'Hb A₂ soit plus bas, dans la persistance de l'Hb F que dans la thalassémie mineure.

Le seul critère valable est la répartition homogène d'Hb F dans les globules rouges de la "P.H.F.", à l'inverse de la thalassémie, ce que nous avons vu plus haut, car, rien d'autre ne permet cette distinction avec certitude.

2 - Dans les hémoglobinoses β associées à la "P.H.F." S-F, S-C, on peut noter le taux anormalement fort d'hémoglobine foetal, et l'absence totale d'Hb A.

3 - La comparaison d'hétérozygotes pour l'Hb Lepore et d'hétérozygotes pour la P.H.F. nous montre que chez les premiers, il n'y a pas de troubles

hématologiques, et que le taux d'Hb A_2 est plus bas. Cela rapproche, encore plus le caractère Hb Lepore de la thalassémie.

4 - Le gène F s'exprime donc, par une disparition totale de la synthèse des chaînes β et δ , remplacée par la synthèse de la chaîne γ .

5 - L'interprétation génétique sera donné, plus loin, lors de l'étude des modèles moléculaires.

ooOoo

LA THALASSEMIE α

En 1959, INGRAM et STRETTON pensèrent que la chaîne α de l'Hb pouvait être aussi sujette à une insuffisance de synthèse et qualifièrent le fait α thalassémie.

L' α thalassémie est beaucoup plus rare que la variété β ; elle est difficile à dépister.

L' α THALASSEMIE HOMOZYGOTE

Les études faites en Extrême-Orient ont prouvé que l'état homozygote était léthale. Tous les cas cités affectent des sujets d'origine chinoise.

Le sang du cordon d'un enfant mort-né d'érythroblastose comportait 80% d'Hb Bart's. LEE INJO et LUANG ENG (1959) en Indonésie, ont cité le cas de deux enfants morts-nés qui étaient des jumeaux uni-ovulaires. Ils possédaient tous deux de l'Hb Bart's.

On sait que cette hémoglobine a pour structure γ_4 . Elle résulterait dans l' α thalassémie, donc, de l'excès de dimères γ_2 relativement aux dimères α_2 en défaut.

Ces morts-nés présentaient un tableau d'anasarque, avec ascite, hépatomégalie.

L'enquête clinique éliminait une incompatibilité de groupe sanguin (O, A, B, Rh).

La léthalité s'explique parce que l'Hb Bart's ne peut transporter l'oxygène.

L'enquête hématologique montrait une hypochromie marquée, des "cellules cibles" et une tendance à la falciformation.

L'étude électrophorétique montrait de petites quantités de Hb A., des traces de Hb H et pas de Hb F. La présence d'Hb H indique que le peu de chaînes β en excès se tétramérisent pour former Hb H de structure β_4 .

Exception faite de petites anomalies des globules rouges l'étude génétique des parents n'a rien montré de particulier ; en outre aucune étude électrophorétique pour rechercher Hb H n'a été encore faite.

α Thalassémie hétérozygote

Les enfants étudiés étaient cliniquement normaux, ou au maximum atteints d'un syndrome thalassémique atténué. Dans le sang, on observait une hypochromie, une anisopoikilocytose, quelques "cellules cibles". Mais le signe principal est l'apparition d'inclusions cellulaires dans les globules rouges, colorables au bleu crésyl brillant. Le fer sérique était normal.

Dans le sang du cordon, on trouvait une fraction hémoglobinique 10 à 15%, migrant rapidement : l'Hémoglobine Bart's (TUCHINDA 1959, VILLA 1959, LIE INJO 1959). Cette fraction disparaît cependant à l'âge de 6 mois.

L'enquête génétique montrait qu'un des parents était atteint d'une légère thalassémie avec les signes hématologiques classiques : hypochromie, cellules cibles, des inclusions au bleu crésyl dans les cellules rouges, et un peu d'Hb H était décelé à l'électrophorèse. Parfois aussi l'enquête ne donnait aucun renseignement utile.

EVOLUTION :

Elle est bonne. Pendant leur croissance on trouve des taux normaux d'hémoglobine A_2 et F, et parfois de l'Hb H.

Caractère de l'hémoglobine Bart's

Elle a des propriétés communes avec Hb F ; même comportement à l'électrophorèse sur gel AGAR à pH 6, même spectre U.V.. Sa dissociation, réassociation avec des chaînes α donnait de l'Hb F. Elle était moins résistante à la dénaturation alcaline et elle avait le même "finger print" que les chaînes γ de l'Hb F. On la sépare à pH 6,5 de l'Hb A_2 pH pour lequel elle migre vers l'anode.

A pH 8,5, elle migre plus rapidement que l'hémoglobine J, mais cependant moins vite que l'hémoglobine H. Par chromatographie sur Amberlite elle est éluée la première, avant l'hémoglobine H. On a montré que son extrémité N-terminal était le résidu de glycine comme dans la chaîne γ . On peut donc l'écrire γ_4 .

Répartition géographique du gène α thalassémique

On a trouvé un fort taux en Chine (4%) lors de certaines enquêtes. On le trouve en Malaisie, en Inde, chez les noirs africains (8%), chez les noirs américains jusqu'à 30% et chez les arabes (10%) au cours d'enquêtes limitées.

En conclusion, le diagnostic de la forme hétérozygote est difficile, car le taux d'Hb A_2 est normal. Il serait plus facile de faire le diagnostic en période néo-natale que chez l'enfant. (MALAMOS et FESSAS 1962)

Le seul sondage complet connu est celui que les auteurs ont fait sur 109 sujets grecs présentant un syndrome thalassémique, une enquête complète mettant en oeuvre une recherche d'inclusion globulaire colorable, et une soigneuse technique d'électrophorèse. Ils ont trouvé 5 cas dans lesquels il

existait des anomalies globulaires (forme et concentration basse en Hb, Ils constataient, d'autre part, que chez les parents des cinq sujets, de l'Hb Bart's.

Ces autours concluaient au diagnostic d'alpha thalassémie, pour ces cinq cas.

Seules des enquêtes pareilles, utilisant de telles méthodes d'investigations, pourront permettre de porter ce diagnostic en présence de syndromes thalassémiques atténués.

Malheureusement l'enquête de MALAMOS et FESSAS est la seule enquête complète que nous possédons.

Interprétation des constatations sur l'hémoglobine chez les hétérozygotes α thalassémie

Chez le fœtus atteint on trouve des taux d'Hb Bart's de 5 à 15% . Cela est dû à l'excès de chaînes γ par rapport aux chaînes α insuffisantes.

A la naissance les chaînes β se substituent aux chaînes γ , et comme elles ont plus d'affinité pour les chaînes α que ces dernières (HUEHNS, BEAVEN 1962), elles captent les chaînes α , et forment de l'hémoglobine A ; plus on s'éloigne de la naissance, plus le diagnostic est difficile chez l'enfant, car l'Hb Bart's disparaît et l'hémoglobine H ne s'est pas encore formée.

Chez l'enfant on peut trouver à côté des traces d'Hb Bart's un peu d'Hb H.

Chez l'adulte la production des chaînes α s'élevant, on ne trouve habituellement pas d'Hb H, bien que des traces peuvent être mises en évidence par des techniques très sensibles.

En conclusion, l'état hétérozygote de l'alpha-thalassémie se résume en un syndrome thalassémique atténué, une augmentation de la résistance osmo-

tique globulaire. Le diagnostic repose sur la formation d'inclusions cellulaires au bleu crésyl, et sur la présence de traces d'hémoglobine H ou Bart's par électrophorèse on gel d'amidon. Les taux normaux d'Hb A₂ et d'Hb F ne sont pas des critères suffisants à eux seuls pour établir ce diagnostic.

α Thalassémie - Hémoglobinoase α

1 - α thalassémie Hb Q

- Un cas, chez un chinois, d'association d-thalassémie Hb Q a été décrit (VELLA, WELLS et LEHMANN 1958).

Cliniquement, il présentait des signes radiologiques de thalassémie. Dans le sang, il existait une hypochromie, une anisopoikilocytose, et des inclusions cellulaires colorables au bleu crésyl dans les globules rouges. A l'électrophorèse, on notait 20% d'Hb H et 75% d'Hb Q, les taux d'Hb A₂ et d'Hb F étaient normaux.

DORMONDY et LOCK (1961) étudiaient le cas d'un autre malade qui présentait les mêmes signes que le précédent, avec, en plus, un taux d'hémoglobine de 9 g pour 100 ml. Le fer sérique était élevé. A l'électrophorèse on trouvait 5% d'Hb Bart's, le restant d'hémoglobine Q et Q₂ ($\alpha_2^Q \gamma_2$), et pas d'hémoglobine A ni A₂ ; l'Hb F était normale.

La mère du sujet était porteuse d'hémoglobinoase Q avec un taux d'Hb A de 60% et d'Hb Q de 40%. Le père n'avait pas pu être étudié. Nous retrouvons là encore dans cette association, la classique forme "interacting thalassémie".

DORMONDI, LOCK et LEHMANN en 1961 ont étudié en Thaïlande, un enfant de dix mois, qui présentait une hypochromie, une anisopoikilocytose, un taux d'hémoglobine bas.

L'incubation au bleu crésyl faisait apparaître des inclusions globulaires.

A l'électrophorèse, il y avait 5% d'Hb Bart's et 95% d'Hb Q + Q₂. On ne trouvait pas du tout d'Hb A, ni d'Hb A₂, Hb S était normal. Les autours n'étaient pas trouvés d'Hb H.

Le père était porteur de l'hémoglobinoase Q, la mère était atteinte d'hypochromie, d'anisocytose, anisopoikilocytose et d'une augmentation de résistance osmotique. Les inclusions globulaires apparaissaient au bleu cré-syl.

Les deux gènes anormaux venaient chacun d'un des parents. Tout concorde pour la similitude absolue avec cette dernière association.

2 - α thalassémie - Hb I

ATWATER, SCHARTZ, ERSLEV 1960 décrivent un cas d'association d'α thalassémie Hb I. Il s'agissait d'une femme atteinte d'une anémie gravidique; son taux d'Hb I était de 70% mais Hb F était normal et Hb A₂ bas (il s'agissait en fait Hb A₂¹ (α₂¹ δ₂)). Un des enfants avait 20% d'Hb Bart's à la naissance et avait une hypochromie globulaire.

ATWATER, QCHWARTZ, ERSLER 1960 ont observé chez la mère et les deux enfants d'une malade atteinte de α thal-Hb I une hypochromie persistante. Un autre enfant était lui porteur d'Hb Bart's et d'hypochromie.

En conclusion, on retrouve dans ces cas la répression quasi-totale du gène α thalassémique ; l'association α thalassémie - hémoglobinoase α est le seul domaine de l'entité "α thalassémie", qui nous apporte la preuve évidente de l'insuffisance de synthèse des chaînes α causée par le gène thalassémique. On y retrouve la variété "sans production d'Hb A", que nous avons vue dans la thalasso-drépanocytose.

Soulignons pour terminer, l'intérêt des enquêtes génétiques approfondies dans ces cas.

Association α thalassémie - hémoglobino β

1 - α thalassémie - hémoglobine S

Quatre observations ont été décrites (SILVESTRONI et BIANCO 1952 et AKSOY et LEHMANN 1957). Il s'agissait d'enfants noirs qui présentaient en période néo-natale un certain taux d'Hb Bart's, quelques années plus tard, ils présentaient un taux d'Hb S inférieur à celui d'Hb A, et des taux d'Hb F et d'Hb A₂ normaux. Ces résultats font la preuve du gène α thalassémie et montrent l'absence d'interaction entre ce gène et le gène S. En outre, l'enquête génétique montrait que les deux gènes se ségrégeaient de manière indépendante, ce qui prouve leur non allélisme.

2 - α thalassémie Hb C

Une autre "non interacting" thalassémie - Hb C a été relatée chez des enfants noirs ; ils présentaient à la naissance de l'Hb Bart's ; par la suite le taux d'Hb C restait inférieur à celui d'Hb A.

Dans tous ces cas, les signes hématologiques ne se différencient pas de ceux de l'interacting-thalassémie.

Chez les malades porteurs de ces associations (un enfant décrit par ZUELZER et KAPLAN 1954) la symptomatologie était pratiquement nulle.

En conclusion on a donc, la preuve de l'indépendance des deux gènes Thal et S ou C. Ces cas rentrent dans la classique forme "non interacting-thalassémie".

Hémoglobine Auguste 1 et Auguste 2

- Dans le sang du cordon d'un enfant noir, HUISMAN (1960) trouvait de l'Hb F, de l'Hb A, de l'Hb S et Hb Bart's en plus. Il isolait une fraction migrant plus vite que l'Hb A dont la structure étudiée par association et réassociation, faisait penser à une formule β_4^S (Hb Auguste 1). Le père de

cet enfant était porteur d'Hb S et de traces d'Hb H. L'enfant étudié était donc un double hétérozygote α thal-S.

- De même dans l'association α thal-Hb C, chez des enfants, on a découvert une fraction rapide β_4^C (Hb Auguste 2).

Cependant nous n'avons pas encore de preuve formelle de ces structures malgré la pratique de leur fingerprint (WEATHERALL (1963)).

Si elles se confirment, on saura indirectement que les dimères α_2 , ont plus d'affinité pour les dimères β_2 que pour les dimères β_2 S.

CONCLUSION : D'un point de vue diagnostic, les cas de syndromes thalassémiques qui paraissent se classer dans la forme "non interacting thalassémie avec taux bas d'Hb A₂" doivent être vérifiés, par une électrophorèse sur gel d'amidon, de manière à essayer de mettre en évidence des traces d'Hb H et Hb Bart's, par la recherche d'éventuelles inclusions globulaires et par l'enquête génétique, dans le but de dépister le gène α thalassémique.

Association α Thalassémie - Persistance héréditaire de l'Hb foetale

FESSAS, STOMATOYANNOPOULOS, 1961, ont décrit un enfant présentant à la naissance un certain taux d'Hb Bart's. Cliniquement il ne présentait qu'une petite anémie. Dans leurs hémolysats l'électrophorèse montrait des taux de 1,9% d'Hb Bart's, 17% d'Hb F, un taux d'Hb A₂ normal et pas d'Hb H.

En outre, après coloration au bleu crésyl, les globules rouges contenaient des inclusions. L'enquête génétique révélait que le père était hétérozygote pour P.H.F. et sa mère présentait une petite quantité d'Hb H et Hb Bart's. Ces résultats montrent que cet enfant portait les 2 gènes : " α thal" et "P.H.F."

On remarque surtout que cet enfant était peu atteint et moins atteint que sa mère. Tout se passe comme si l'Hb F protégeait ses globules rouges.

Biochimiquement, les chaînes α en quantité réduite captent toutes les chaînes γ pour donner Hb F, alors que les chaînes β réprimées par le gène P.H.F. ne forment alors que peu ou pas d'Hb H.

Association α thalassémie β thalassémie

Les trois cas de cette association cités par FESSAS en 1961, furent réétudiés et leur diagnostic confirmé. L'état de ces sujets n'était pas très grave. L'Hb A₂ était élevé, L'Hb Bart's était présente et on trouvait des inclusions colorables dans les globules rouges, seuls témoins de la présence d'Hb H.

BERNINI et COLUCCI en 1962 décrivent un malade atteint d'une sorte de thalassémie majeure clinique et hématologique.

Son taux d'Hb A₂ était faible.

L'enquête génétique montrait que sa mère était atteinte d'une "thalassémie avec Hb A₂ élevée" (Thal type 1) et que du côté paternel on retrouvait des signes d' α -thalassémie.

Pour les auteurs le taux d'Hb A₂ observé s'expliquerait par une délétion de l'ensemble de la portion du génome portant les gènes β et δ .

WEATHERALL en 1963 observe un enfant de 6 mois ayant 10,8% d'Hb F, des traces de Hb Bart's et un taux d'Hb A₂ normal. A la naissance l'Hb Bart's était élevée.

Sa mère présentait une légère anémie avec 5,9% d'Hb F et des traces d'Hb Bart's. Le père était indemne.

Ces constatations ne pouvaient se justifier que par la présence chez l'enfant et la mère seulement de la même affection : α thalassémie associée à une β thalassémie à Hb A₂ anormale (thal. type 2).

L'étude des grands-parents a montré que la grand'mère maternelle présentait une hypochromie et une résistance osmotique globulaire élevée et le grand-père maternel 6°/° d'Hb F avec Hb A₂ normale. Les deux gènes provenaient donc des grands parents maternels.

En conclusion les deux gènes sont transmis d'une manière indépendante c'est à dire sur des chromosomes différents ou très éloignés sur le même chromosome.

L'association précédente et moins grave cliniquement (rôle de l'Hb F) qu'une anémie de COOLEY.

ooOoo

L'Hémoglobinopathie H -(RIGAS)

De nombreux auteurs de 1955 jusqu'à nos jours, se sont attachés à reconnaître cette entité et les cas décrits sont assez nombreux.

L'âge des sujets s'étale de quelques mois à 80 ans.

La répartition géographique est variée : en Extrême Orient principalement, en Chine, en Indonésie, au Népal, aux Philippines, sur les rives de la Méditerranée (Italiens, Grecs, Juifs) et même en Europe (Angleterre et Ecosse).

La symptomatologie est d'un polymorphisme extrême, cela peut-être une simple asthénie, une anémie au long cours, modérée, ou nécessitant transfusions ou mêmes splénectomie (BENESCH 1961); des périodes ictériques, des épisodes fébriles (FESSAS 1959), des crises douloureuses de l'hypochondre gauche (LIEINJO 1961), des douleurs de l'hypochondre droit (FESSA MINNICH 1958) enfin des arthralgies (WOODROW, NOBLE 1964), pseudo-rhumatismales; aucune lithiase biliaire n'a été rapportée.

On peut observer une splénomégalie plus ou moins volumineuses; des ulcères de jambes ont été signalés, mais parfois, aussi bien cliniquement que radiologiquement aucun signe de thalassémie n'est retrouvé . Un cas associé à une leucémie a été cité (DACIE 1960).

MINNICH, FESSAS et LI INJO 1961, ont noté des signes radiologiques de thalassémie. L'examen du sang périphérique, montre des taux faibles d'Hb (8g/100ml) une réticulocytose très variable de 5 à 8 % (MINNICH 1958).

Il existe souvent, une hypochromie, une amisopolikilocytose et une leptocytose. Il n'y a pas d'hématies nucléées et la moëlle présente une hyperplasie érythroblastique. La résistance osmotique est augmentée, et on note des signes d'hémolyse; l'incubation au bleu crésyl brillant fait apparaître des inclusions dans les globules rouges, qui n'existaient pas avant la coloration.

On sait que celles-ci sont dues à l'hémoglobine H. Bien qu'après l'hémolyse de ces globules les inclusions restent dans les débris cytoplasmiques, la responsabilité de l'HbH ne fait pas de doute.

L'Hémoglobine H

L'étude électrophorétique montre que :

L'hémoglobine H est la plus rapide avec Hb I des hémoglobines à migrer vers l'anode, à pH 6,5.

A pH 8,5 elle migre plus vite que Hb A.

son taux est ici de 5 à 30 %

Une autre fraction migrant vite a été identifiée par les auteurs, comme étant de l'Hb Bart's par les caractères physiques et chimiques suivants.

"Finger-print" caractéristique de chaîne γ , dissociations, réassociations avec des chaînes α aboutissant à de l'Hb F, (RAMOT, SHEBA, AGER, LEHMANN 1959).

Cet Hb Bart's est responsable du caractère alcalino-résistant de l'hémoglobine trouvée dans ce syndrome, alors que l'Hb F est la plupart du temps absente (RAMOT 1959).

A pH 6,5, cette hémoglobine migrerait vers l'anode moins vite que l'Hb H.

Par certaines techniques DANCE (1963), a isolé une fraction hémoglobinique constituée uniquement de chaînes β normales (β_4) désignée $\beta^A 2$. De précises chromatographies et électrophorèses sont nécessaires pour en faire la preuve.

Le taux d'Hb A2 est toujours faible.

Le taux d'Hb Bart's en principe très faible dans ce syndrome, a pu cependant, dans quelques cas dépasser celui de l'HbH.

La présence d'Hb F a été démontrée par chromatographie

Une grande variabilité du taux des différentes fractions est habituelle dans cette hémoglobinopathie.

Pathogénie des troubles de l'hémoglobinopathie H

La cinétique des globules rouges dans cette affection par marquage des globules rouges au chrome radioactif a fourni un $T_{1/2}$ bas de 10 à 15 jours (RIGAS et KOLER 1961).

Mais comme on ne connaissait pas l'élution du chrome 51 fixé sur l'Hb H, il a fallu procéder indirectement pour vérifier ce $T_{1/2}$.

GABUDZA et NATHAN 1964, pratiquèrent l'injection simultanée de globules rouges au chrome contenant Hb H, aux malades et aussi à des sujets normaux. Ils constatèrent une forte séquestration splénique de ces globules rouges chez les deux groupes de sujets.

In-vitro, l'incubation des globules rouges de ces malades en présence d'agents méthémoglobinisants (sulfamides, sodium, métabisulfites, nitrites, bleu de méthylène) fait apparaître des inclusions cellulaires.

d'où l'hypothèse, que ces inclusions proviennent de la précipitation d'Hb H dans les vieux globules rouges, où les systèmes enzymatiques ont une activité réduite; la rate détruirait plus rapidement ces globules rouges.

L'étude histologique de la pulpe splénique de sujets splénectomisés montre qu'elle contient ces inclusions, outre, après splénectomie les malades qui n'avaient pas d'inclusions dans leurs globules rouges, en possédant alors, et ce même dans des cellules jeunes (RIGAS et KOLER 1964). On conçoit donc que

les inclusions qui apparaissent après coloration au bleu crésyl brillant, ne sont autres que la précipitation de l'Hb H, sous l'influence du colorant, après plusieurs séries d'incubations.

On comprend ainsi, que chez ces malades certains médicaments devront être administrés avec prudence : aspirine, phénacétine, salazopyrine, sulfamides.

GOUTTAS, LIE INJO et HART (1963), ont insisté sur les faits bénéfiques de la splénectomie dans cette affection.

Expérimentalement, le cinétique de l'Hb H a été étudié, grâce aux isotopes.

A l'aide, de la glycine marquée incorporée dans l'HbA et de l'Hb H, on a pu suivre leur captation par le tissu splénique "in-vivo" et "in-vitro" (GABUDZA, NATHAN, GAROVER 1964).

L'activité spécifique de l'Hb H, y était de loin supérieure à celle de l'Hb A, bien que le rapport des activités dans le sang, $\frac{\text{HbH}}{\text{HbA}}$ n'était que de 20 %. Ceci indique le rôle destructeur important joué par la rate, vis à vis de l'Hb H.

PEARSON et MAC FARLAND 1962 grâce au fer, ont pu faire la preuve d'une insuffisance de la synthèse de l'hémoglobine (demi-vie plasmatique du fer bas, incorporation globulaire retardée).

La génétique de l'Hémoglobinoopathie H

Les études statistiques, dans les familles atteintes montrent :

a - Chez les enfants atteints, qu'un des parents est en général porteur d'un syndrome thalassémique atténué, avec des taux d'Hb A2 et d'Hb H bas et parfois avec des inclusions dans les globules rouges. Cela met en évidence, chez ce parent une α -thalassémie.

Dans un quart des cas, cependant, ces parents sont atteints d'une vraie maladie Hb H.

b - Lors du croisement de malades Hb H, avec des sujets normaux les enfants obtenus présentent, tantôt un syndrome thalassémique avec Hb A2 et Hb F bas (la moitié des cas environ), tantôt la présence isolée d'Hb Bart's. Un certain nombre d'enfants sont totalement normaux, (un quart des cas); enfin, un quart des enfants environ présentent la maladie Hb H.

Pour INGRAM et STRETTON (1962), cette maladie résulterait d'une α thalassémie homozygote ou d'une α thalassémie associée à une mutation au niveau d'un gène β se traduisant par un nouvel acide aminé équivalent électriquement à l'acide aminé initial ("silent mutation"); il en résulterait dans cette deuxième hypothèse que les chaînes β mutées formeraient β_4 lorsqu'il existe une insuffisance de chaînes α .

L'hypothèse d'une alpha thalassémie homozygote atténuée semble impossible, car nous avons vu, que les homozygotes α thal, ne sont pas viables.

Elle nécessite que les parents du malade atteints, soient tous porteurs d'un gène α thal, et, que ce malade ait eu de l'Hb Bart's en période néo-natale. Or, ces observations sont rarissimes (deux cas connus). De plus la fréquence des malades nécessite la rencontre de deux hétérozygotes α thal, ce qui correspondrait, vu la fréquence des sujets atteints, à un taux de 10% du gène α thal dans la population. Or, cela n'est pas le cas.

De plus, la fréquence de cette hémoglobinopathie H, devrait être très fréquente dans les populations atteintes de thalassémie α , ce qui semble infirmer les électrophorèses pratiquées systématiquement en grande série, chez des noirs d'Amérique (WEATHERALL).

Les résultats des enquêtes familiales précédentes nous ont montré que, un quart des enfants recevaient directement la maladie Hb H portée par l'un des parents. Cette proportion suggère l'hétérozygotisme du père, pour la tare; mais l'existence d'un grand nombre d'enfants atteints d'un syndrome thalassémique (la moitié) provenant de tels parents, nous indique la présence d'un autre gène associé. Le fait, de trouver des taux d'Hb A2 bas chez ces enfants qui ont reçu ce gène associé, nous montre que ce dernier déprime la formation de chaînes α .

Ce gène associé pourrait donc bien être une certaine variété de gènes thalassémiques. La présence de tétramères β_4, γ_4 et δ_4 , chez les sujets atteints corrobore cette hypothèse.

En conclusion, l'étude de l'hémoglobinopathie H semble montrer qu'elle résulte d'une association d'une variété de gène thalassémique, avec un autre gène, probablement α thalassémique mais qui en diffère, cependant.

La notion d'hétérogénéité de la Thalassémie en est ainsi renforcée.

La biochimie de l'hémoglobine H

JONES et SCHROEDER (1959), lui ont attribué la structure β_4 . C'est la moins stable des hémoglobines et qui migre le plus rapidement. Elle précipite très vite à 4° C. Son N-terminal est la glycine. Elle possède deux groupes-SH par chaînes β .

Son "finger-print" est identique à celui de la chaîne bêta, dont elle a les autres caractères physico-chimiques.

La dissociation-réassociation en présence de chaînes α , donne de l'HbA.

La courbe de fixation de l'oxygène ne présente pas d'effet Bohr : par conséquent il n'y a pas d'interaction allostérique et l'HbH fixe dix fois plus l'oxygène que l'Hb A, ce qui la rend inutilisable in vivo.

MECANISME D'ACTION
DU
GENE
THALASSEMIE

BIOSYNTHESE DE L'HEMOGLOBINE CHEZ LE SUJET NORMAL

1° - Elle associe deux processus synthétiques la biosynthèse de l'hème et celle de la globine.

Elle se produit dans les érythroblastes de la moëlle.

THEORELL a montré que le basophilie des érythroblastes jeunes, correspondait à une intense synthèse d'ARN.

L'Hémoglobination ne commence que lorsque cesse la synthèse d'ADN nucléaire, ce qui ralentit celle de l'ARN messager (BORSOOK 1964).

Après disparition du noyau (et d'ADN'), la synthèse de l'hémoglobine se termine progressivement dans les réticulocytoses au niveau de la substance granulofilamenteuse.

A - Biosynthèse de la globine dans l'érythroblaste

Ce sont les gènes des chromosomes qui transmettent leur message de synthèse; ils sont constitués d'ADN.

La structure de l'ADN est connue depuis les travaux de WATSON et CRICK 1954. Il s'agit de deux chaînes hélicoïdales enroulées l'une autour de l'autre, en sens inverse, on dit qu'elles sont antiparallèles.

Chaque chaîne est constituée d'une séquence de mononucléotides c'est-à-dire qu'elle est formée d'une succession de molécules de désoxyribose, unies par des molécules d'acide phosphorique formant ponts entre les carbones 3' et 5'.

Des bases sont fixées sur le carbone I' des molécules de désoxyribose. Ce sont des bases puriques : adénine et guanine, et des bases pyrimidiques : cytosine et thymine.

La succession des bases le long de la chaîne forme une séquence qui est particulière à l'individu.

Les deux chaînes hélicoïdales sont unies par des ponts hydrogènes existant entre certaines bases dites complémentaires guanine et cytosine d'une part, et thymine et adénine d'autre part. En d'autres termes le rapport de bases $\frac{A + G}{T + C}$ est égal à 1, tandis que le rapport $\frac{A + T}{G + C}$ est une constante spécifique de l'espèce, que rend compte de la séquence des bases.

La distance entre deux bases, projetées sur l'axe de l'hélice est de 3,4 Å, et le pas de vis de l'hélice est de 34 Å.

C'est la séquence des bases de l'ADN, qui dicte par complémentarité, celle des bases de l'ARN messenger.

L'ARN messenger : il est formé au contact de l'ADN dont il copie par complémentarité la séquence des bases, d'une seule des deux chaînes très probablement, de manière progressive et orientée sur les cistrons : c'est la Transcription 1. Il peut y avoir un ARN messenger par cistron, transcription monocistronique ou un seul ARN messenger pour plusieurs cistrons, c'est la Transcription polycistronique.

A la place de la thymine que l'on trouvait dans l'ADN il existe l'uracile dans l'ARN. Lors de la transcription, la base complémentaire de l'adénine dans l'ADN est l'uracile dans l'ARN. De plus il ne s'agit pas, ici de désoxyribose, mais de molécules de ribose.

La structure de l'ARN messenger est formée d'une seule chaîne ribonucléotide, quelques boucles sont créées par l'existence de liaisons hydrogène entre des bases complémentaires de la chaîne. La molécule de longueur variable ; elle sédimente à 9 S, environ en gradient de sucrose.

L'ARN messenger a une durée de vie souvent courte. Cependant la cas des réticulocytes, celle-ci pourrait se chiffrer en jours. Du noyau où il est créé,

l'ARN massager gagne le cytoplasme. Les pores de la membrane nucléaire observées au microscope électronique pourraient bien être ses lieux de passage.

L'ARN ribosomal

Dans le cytoplasme : les ribosomes sont le seul lieu où se fait la biosynthèse.

In-vitro, on utilise surtout pour étudier la biosynthèse de l'hémoglobine des systèmes somportant des ribosomes de réticulocytes de lapin.

Le ribosome est constitué de 40 % de protéines et de 60 % d'ARN ribosomal environ.

Les études de ROBERTS, ont montré qu'il est formé de l'association de sous unités élémentaires qui sédimentent de 23 à 28 S et de 16 à 18 S. Deux fractions principales sont ainsi formées, 30S et 50S, qui constituent les deux parties de l'unités fonctionnelle de synthèse, qui est le ribosome 70 S.

La structure de l'ARN ribosomal est monocaténaire avec ponts hydrogène intra-chaîne.

RICH, a montré qu'au cours de la biosynthèse de l'hémoglobine, une molécule d'ARN messager, unit plusieurs ribosomes, l'ensemble constituant, UN POLYSOME.

Le Code génétique

La séquence des acides aminés d'une protéine, répond à la séquence des bases dans l'ADN.

Pour rendre compte du fait qu'une séquence formée à partir de quatre bases de l'ARN dicte la séquence de vingt acides aminés. CRICK, a proposé, le code génétique. Ainsi est apparue la notion de triplet : séquence de trois bases auquel correspond à un acide aminé donné.

On a ensuite démontré, que le code génétique est universel.

Aussi, LIPMANN, obtient une biosynthèse d'hémoglobine de lapin, en incubant, in-vitro, des ribosomes de réticulocytes de lapin avec des ARN de transfert de E. Coli, chargés préalablement en acides aminés marqués par les enzymes de Coli.

La lecture des triplets est orientée et non chevauchante.

Dans le cas d'une transcription polycistronique, c'est-à-dire lorsque l'ARN messager contient l'information de plusieurs gènes de structure, des ponctuations sont nécessaires. Certains pensent que les bases méthylées rares que l'on retrouve dans les acides nucléïques pourraient pour jouer un rôle dans cette ponctuation, comme le feraient des virgules dans cet "alphabet à 4 lettres".

En outre, plusieurs triplets ou mieux CODONS, peuvent correspondre au même acide aminé; c'est la dégénérescence du code. Cette notion est devenue importante, car elle permet la survie possible dans le cas où une base d'un même triplet serait changée, en permettant quand même le codage du même acide aminé par un autre ARN spécifique de l'acide aminé et du nouveau triplet.

L' activation des acides aminés

Dans le cytoplasme les acides aminés sont activés en se liant à un ARN de transfert. Ce dernier est une petite molécule qui sédimente à 4 S.

Il est formé d'un seul brin de ribonucléotides (70 environ).

Il a une structure secondaire importante, chaîne repliée au milieu dont les deux moitiés sont enroulées en hélice avec des ponts hydrogène, entre les bases complémentaires des deux branches.

Une de ses extrémités, se termine par la base guanine, et l'autre extrémité par la séquence C.C.A. Cette dernière extrémité est celle où se fera la liaison avec l'acide aminé. Cette liaison unit le carbone 3' du dernier ribose à l'extrémité carboxylique de l'acide aminé. Au niveau du coude, il n'existe pas de bases complémentaires : trois bases particulières y forment l'anticodon.

On a vu qu'un même acide aminé peut-être codé par plusieurs triplets, inversement un même acide aminé peut-être activé par plusieurs ARN_T différents spécifiques pour cet acide aminé.

Par contre, la spécificité d'un ARN_T donné, pour un acide aminé donné est absolue, (CHAPPEVILLE).

Ces considérations sont fondamentales pour comprendre la théorie récente d'ITANO (1965) de la thalassémie.

Le processus de l'activation d'un acide aminé est le suivant :

Acide aminé + ATP + Enzyme (synthétase) $\rightleftharpoons$ AMP $\sim$ AA-Enz. + P-P
et ensuite

AMP $\sim$ AA-Enz. + ARN_T $\rightleftharpoons$ AA $\sim$ ARN_T + AMP + Enz.

IN - vitro, on réalise ces réactions au moyen d'acides aminés et "d'enzyme PH 5".

La biosynthèse proprement dite

C'est au niveau des ribosomes que les ARN_T AA viennent se positionner, l'anticodon de l'ARN_T en face du codon de l'ARN messenger.

Il est probable que le messenger passe entre les deux unités 30 S et 50 S des ribosomes. Lors de son passage il y aurait de brefs arrêts correspondant à la lecture de chaque triplet (codon) par un ARN_T portant son acide aminé spécifique.

L'ARN_T $\sim$ AA, vient au niveau du ribosome placer son anticodon en face du codon de l'ARN messenger, dont il est complémentaire par la séquence des trois bases de son coude.

A chaque progression de l'ARN messenger, un ARN_T AA vient prendre la place du précédent au niveau du ribosome, l'acide aminé qu'il porte s'unit par sa fonction amine libre à l'acide aminé précédent, par une liaison peptidique alors que l'ARN_T précédent retourne libre au cytoplasme. Donc, au fur et à mesure du mouvement de l'ARN messenger, la chaîne peptidique est rattachée à la partie 50S du ribosome par le dernier ARN_T (expérience de GILBERT-1963).

Le Turn-over des ARN^t sur le ribosome est rapide. MOLDAVE a montré l'importance des facteurs de transfert, du GTP et du magnésium.

La biosynthèse de l'hémoglobine dans les réticulocytes nous a montré qu'elle avait lieu dans une unité dynamique : le polysome. Il est réalisé par l'association de cinq ribosomes. Des mesures faites au microscope électronique montrent que le diamètre d'un ribosome est de 230 Å, et l'écart de deux ribosomes de 50 Å. Le périmètre de l'ensemble est de 1500 Å; Cette valeur correspond bien à la longueur d'une chaîne d'hémoglobine de 146 acides aminés. En effet, $150 \times 3 \text{ triplet} \times 3,4 \text{ Å} = 1500 \text{ Å}$ (3,4 Å est la distance entre 2 bases) est la longueur de l'A.R.N. messenger.

Expérience de DINTZYS

Cet auteur a incubé, des ribosomes de réticulocytes de lapin avec des acides aminés marqués au Cl¹⁴, pendant quatre heures, de manière à avoir une chaîne polypeptidique marquée uniformément, de référence.

De la même manière, il incube des acides aminés marqués au tritium dans un système identique pendant des temps très courts et répète l'expérience pour des temps de plus en plus long. Pour chaque valeur du temps, il mélange l'hémoglobine de référence Cl¹⁴, et la chaîne d'hémoglobine obtenue marquée au tritium, puis il fait un "finger-print". Il s'aperçoit que des peptides de plus en plus nombreux sont successivement marqués au cours du temps, et ceci d'une manière séquentielle d'un bout de la chaîne vers l'autre.

DINTZYS, prouve ainsi par une expérience ingénieuse en jalonnant au cours du temps, la croissance de la chaîne polypeptidique, que la synthèse est progressive, régulière et se fait de l'extrémité N terminal vers l'extrémité C terminal.

Le messenger parcourt ainsi plusieurs fois de suite le même ribosome, donnant naissance chaque fois à une chaîne d'hémoglobine.

La biosynthèse d'une chaîne d'hémoglobine est très rapide et dure 1 minute 15.

Libération de la chaîne d'hémoglobine du ribosome

Le mécanisme est encore inconnu.

In-vitro, dans des systèmes acellulaires, on peut réaliser la biosynthèse de l'hémoglobine, dans des ribosomes de réticulocytes, en présence d'acides aminés marqués, d'ARN messager et d'enzymes PH 5 (ARN_T facteurs divers). Il est intéressant de souligner que des ribosomes d'une espèce peuvent former en présence d'ARN messager d'une autre espèce, une molécule d'Hb, spécifique de cette autre espèce.

Régulation de la synthèse

Elle est dictée par un mécanisme génétique comparable à celui de JACOB et MONOD à propos des bactéries.

La séquence en acides aminés des chaînes, reproduit celle des bases des gènes de structure.

L'activité de ces derniers est soumise à l'action d'un gène opérateur qui siège au début du gène de structure; l'ensemble formé par, le ou les gènes de structure commandés par le gène opérateur et ce dernier constitue un opéron. Un gène opératoire normal commande la formation d'ARN messager au niveau du gène de structure et par conséquent, la synthèse protéinique.

L'opéron fonctionnerait au maximum, s'il n'était pas soumis à une régulation. Le gène régulateur situé près de lui (en cis) remplit cette fonction. Il forme un aporépresseur substance qui va se combiner au gène opérateur pour l'inhiber empêcher la biosynthèse de l'ARN messager au niveau du gène de structure, et arrêter la biosynthèse de la protéine.

Cet aporepresseur peut subir l'action de facteurs variés qui se combinent à lui sont pour l'empêcher de réprimer l'opéron (inducteur), soit, au, contraire, pour favoriser cette action, (co-répresseur).

Pour STENT, la régulation s'opérerait au niveau de la traduction de l'ARN messager en protéine, mais cette théorie semble être abandonnée (1964).

Union des chaines de la globine

L'union des chaines alpha et bêta, est encore discutée. Pour, HUTCHINSON et VINOGRADON (1960), il s'agirait d'une association symétrique, les unités $\alpha\beta$ rencontreraient des unités semblables avec lesquelles elles s'uniraient. Cependant, les produits des gènes sont les chaines simples α et β

.

La dimérisation n'a pas reçue d'explications suffisantes (solubilité plus grande des dimères etc...)

oOo

APPROCHES BIOCHIMIQUES DU MECANISME D'ACTION DU GENE

THALASSEMIE

LA GLOBINE

1° - L'étude des doubles hétérozygotes, pour le gène β thalassémique et un gène S ou C, nous a montré que la valeur du taux d'Hb A, pouvait être soit nul, définissant la forme "Sans production d'Hb A", soit faible et toujours inférieure à Hb S (ou C), dans la forme " avec production d'Hb A ".

Cet état, ou la synthèse de Hb A est défini "L'interacting thalassémie", indique l'interaction du gène β -thal, avec le gène S, qui modifie en sens inverse, les proportions qu'on observerait le cas d'une simple hétérozygote (Hb A plus grand que HB S).

Cela indique, que la synthèse de la chaîne β est diminuée dans la thalassémie.

Nous avons déjà vu, que les mêmes effets se produisaient dans l'association de l' β -thalassémie, et d'une variante de la chaîne α .

En conclusion, les résultats cliniques semblent faire la preuve, d'une insuffisance de synthèse de la globine.

2° - Etudions sur le plan expérimental, les travaux qui ont été faits pour en faire la preuve.

BANNERMAN GRINSTEIN MOORE en 1959, montraient grâce à l'utilisation de glycocolle -1 C ¹⁴ "in-vitro" et "in vivo" que le rapport "Hème marqué / globine marquée" était normal, et sur cette donnée ils éliminaient un défaut relatif de synthèse de la globine.

Cependant, en comprenant la quantité de globine formée, à partir de moelle de thalassémique incubée avec du glyco-colle² C¹⁴, et le taux de cellules rouges nucléés (NECHELES, BALDINI et DAMASHEK 1964) dans cette moelle, montraient le défaut relatif de synthèse de la globine.

Dans la thalassémie majeure, l'incorporation de l'isotope était vingt fois moindre que la normale, et dans la thalassémie minime du 1/3.

- WEATHERALL et NAUGHTON en 1964, montraient en incubant des cellules rouges, avec du glyco-colle C¹⁴, que l'Hb A et l'Hb S se formaient à vitesse semblable pendant cinq heures.

- La synthèse de Hb A et Hb A₂, a été comparée grâce aux études de RIEDER et WEATHERALL.

1 - In-vitro, ils étudiaient l'incorporation par des réticulocytes de leucine C¹⁵ et de Fe⁵⁹, ils trouvaient, que pendant les cinq premières heures, l'Hb A était synthétisée trois fois plus, que l'Hb A₂.

2 - In-vivo, en utilisant du Fe⁵⁹, le taux d'Hb A, dans la moëlle osseuse, était égale à celle d'Hb A₂.

Ces résultats obtenus relatifs au sujet normal, suggèrent, que la synthèse de l'Hb A₂, dans le réticulocyte décline avant celle d'Hb A. Ils pourraient être en face d'un ARN messenger, instable.

Dans la thalassémie majeure, l'hémoglobine A₂, se formait davantage in-vitro, que l'hémoglobine A. Pour l'auteur ce dernier résultat serait la preuve d'un ARN messenger instable par la synthèse de l'HbA.

Cette synthèse a été étudiée par BURKA et MARKS en 1964, au niveau ribosomal. Cette expérience est la plus démonstrative.

Elle montre que :

a - la synthèse a lieu au niveau des mêmes polysomes; ceux qui séimentent à plus de 100 S, en gradient de sucrose.

b - l'incorporation de leucine marquée est moindre dans la ribosome et dans la fraction soluble, que celle observée dans le même système, provenant de drépanocytose seule.

c - L'incorporation d'isoleucine marquée, (acide aminé qui n'existe que dans la chaîne γ) est égale, dans la thalassémie et dans d'autres anémies hémolitiques.

On en déduit que le lieu de la synthèse est le même dans la thalassémie que chez le sujet normal, et qu'il existe un trouble de la synthèse de l'Hb A non de l'Hb F, qui siège au niveau du ribosome.

Biosynthèse de l'Hème

Elle a été établie par FISHER et SHEMIN.

- Dans un premier temps le succinyl CoA, métabolite du cycle de KREBS, s'unit au glycolle en présence de phosphate de pyridoxal pour former une molécule d'acide alpha-amino-bêta-céto-adipique. Cette condensation qui a lieu sur le phosphate de pyridonal, s'effectue en même temps qu'est décarboxylé l'acide amino céto adipique, lequel n'a d'ailleurs jamais été isolé. On obtient ainsi l'acide amino lévulinique. (ALA). C'est dans les mitochondries des cellules rouges de la moelle osseuse, strictement, que ce processus a lieu.

- Dans un deuxième temps, deux molécules d'acide delta amino lévulinique, s'unissent en perdant deux molécules d'eau pour former une molécule de porphobilinogène sous l'action d'un enzyme; l'ALA déshydrase.

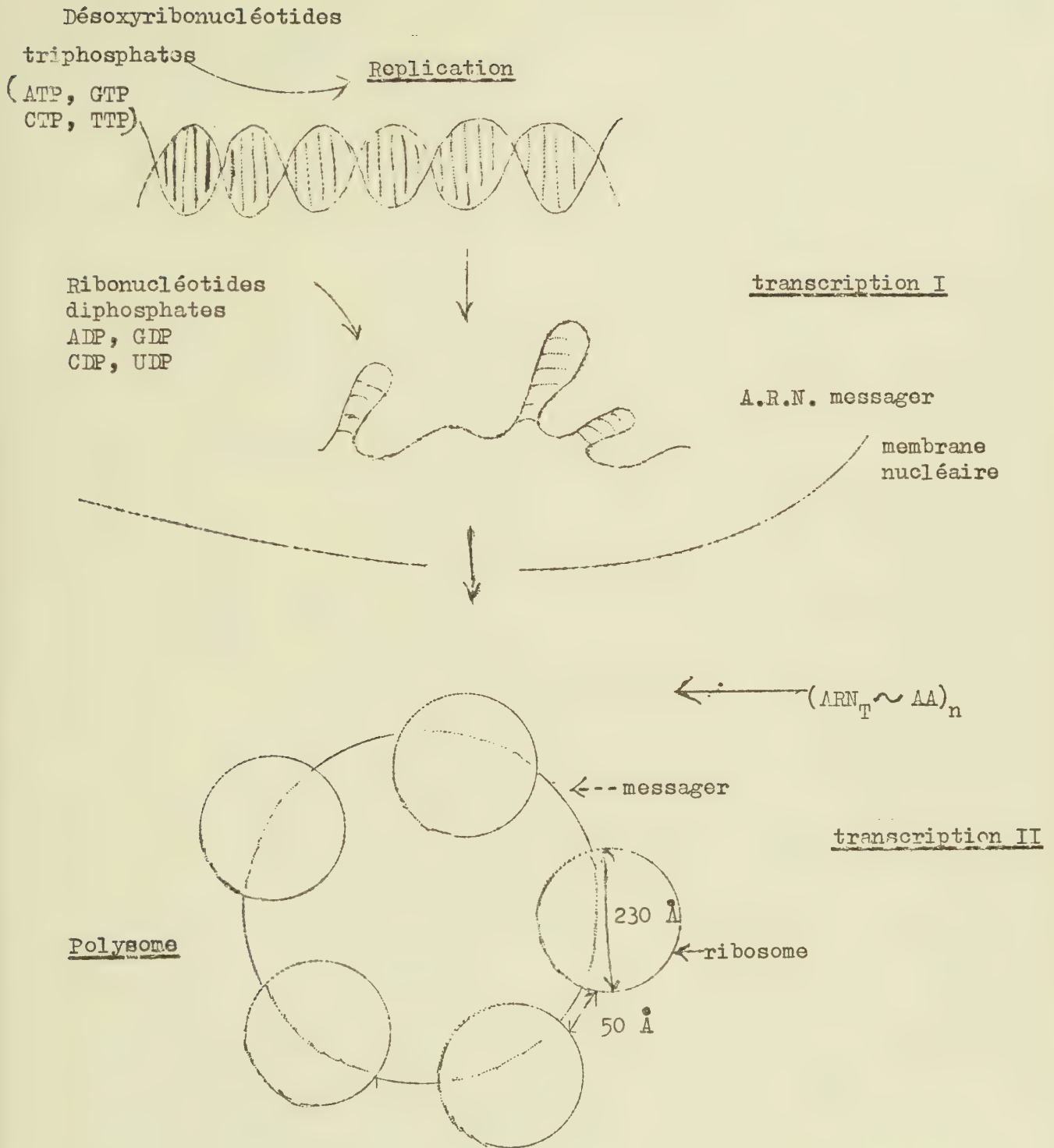
- Dans un troisième temps, quatre molécules de porphobilinogène, après avoir été désaminées, s'unissent pour former une molécule d'uroporphyrinogène I. Les étapes ultérieures aboutissent successivement à la formation d'uroporphyrinogène III puis de coproporphyrine III, puis enfin de protoporphyrine III.

- Dans un quatrième stade la protoporphyrine, s'unit à un atome de fer, en présence d'une ferro-chelatase pour aboutir à l'hème.

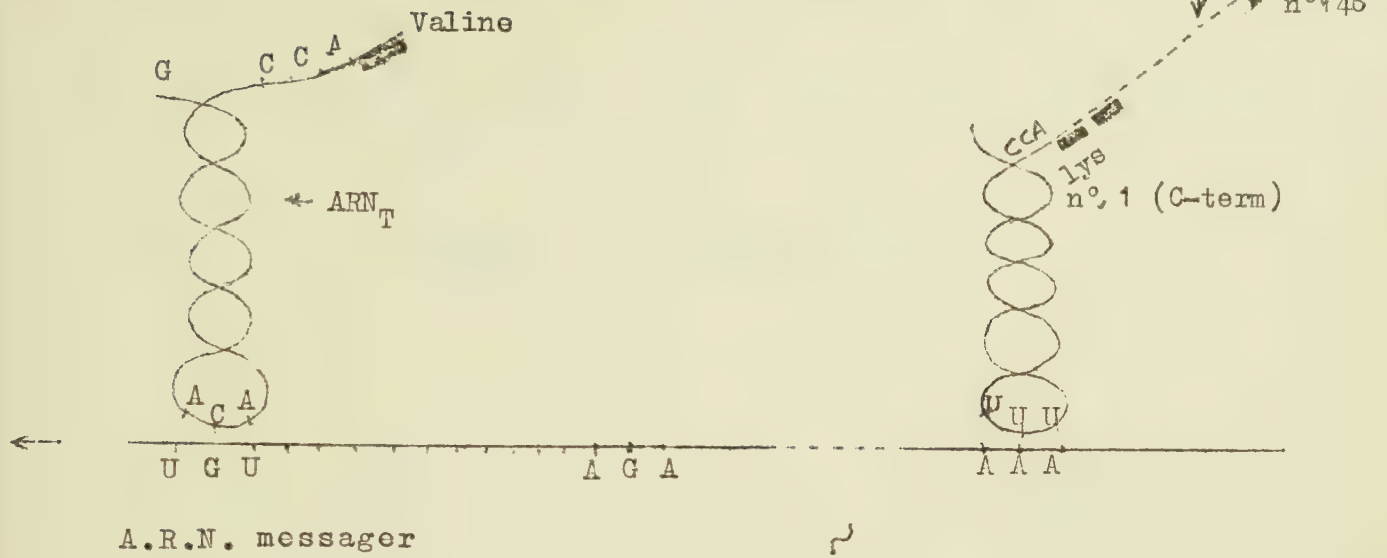
La régulation de l'Hème est soumise à des processus de "feed back"; ainsi, la protoporphyrine inhibe "invitro" l'ALA déshydrase (DAMASHEK et STEINER 1963).

Rapports Hème-globine

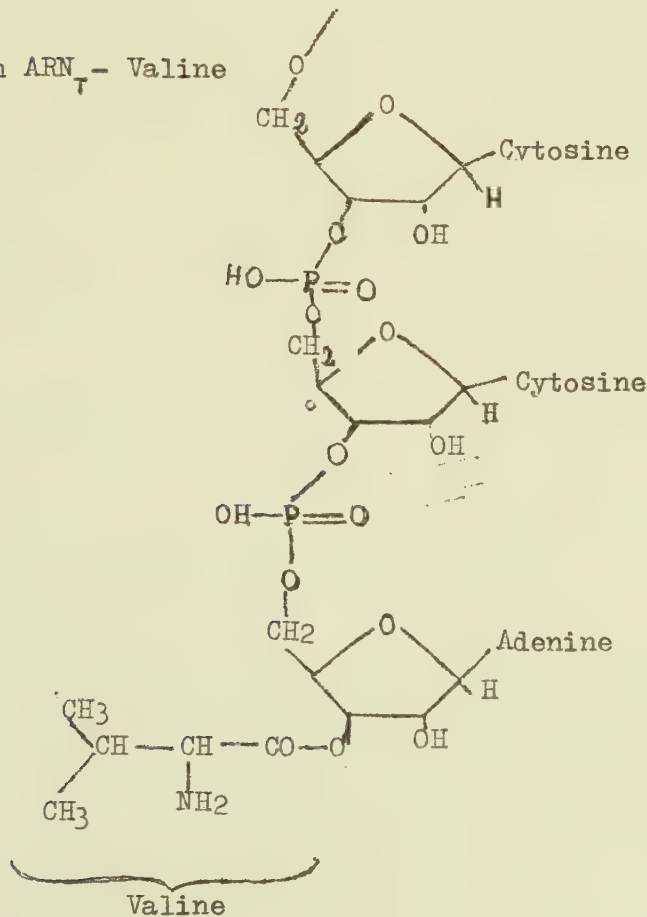
Il y a probablement régulation réciproque de la synthèse de l'hème et de celle de la globine : on admet que leur synthèse est simultanée. BORSOOK (1964), en utilisant du fer 59 et du glyco-colle C14, a montré que l'isotope C14 s'incorporait dans l'hème et dans la globine à la même vitesse.



chaîne polypeptidique...



Liaison ARN_T - Valine



Bout de chaîne de l'ARN_T

TROUBLES DE LA SYNTHÈSE DE L'HÈME

C'est au moyen de la glycine 2C^{14} , que GRINDTEIN, BANETMANN, VAVRA et MOORE, ont étudié le métabolisme de l'hème "in vivo" dans la thalassémie. L'incorporation de l'isotope dans la protoporphyrine se faisait à onze jours, et l'incorporation totale était très réduite. Un sommet d'excrétion de bilirubine marquée se produisait à trois jours, indiquent une destruction prématurée de l'hémoglobine dans la moëlle. Le rapport $\frac{\text{Hème}}{\text{globine}}$ normal ou très peu au dessous de la normale éliminait un trouble affectant l'un seulement de ces deux éléments.

Les mêmes auteurs, ont utilisé, "in-vitro", le fer 59 et la glycine C^{14} . Ils remarquaient, dans la thalassémie majeure une différence d'incorporation de ces deux éléments, le fer de l'hème, était le moins incorporé.

En outre, l'hème total marqué synthétisé, était très faible, en comparaison du taux des cellules nucléées, en culture.

Par ailleurs, l'adjonction de la protoporphyrine libre, augmentait l'incorporation du Fe dans l'hème in vitro.

Ces résultats permettent de penser qu'il existe un bloc avant la synthèse de la protoporphyrine, et un deuxième bloc au niveau de l'incorporation du Fe dans la protoporphyrine, pour former l'hème.

En utilisant l'acide delta amino-lévulinique et du porphobilinogène, la synthèse de l'hème, à partir de ces composés, était plus efficace. Donc, il existe également un autre bloc de la réaction, de condensation, entre la

glycine et le succinyl C.O.A., pour former l'acide delta amino lévulinique . (VAVRA, MAYER et MOORE 1964).

Ces derniers auteurs ont aussi démontré un excès de protoporphyrine libre dans les cellules rouges des malades. Ils ont également supposé, que le substratum de la thalassémie résiderait en un défaut de l'union du fer de la protoporphyrine et de la globine. En fait, cela est discuté, car, les doubles hétérozygotes, 'S- β thal', fabriquent aussi bien l'Hb S que les hétérozygotes pour le gène S seulement (WEATHERALL).

L'activité de l'acide delta amino-lévulinique deshydrogénase (l'ALA déshydrase) a été mesurée, elle s'est montrée très basse dans la thalassémie majeure (STEINER, BALDINI et DAMACHEK 1963).

Plusieurs auteurs ont souligné l'importance des mécanismes de "feed back" négatif qui règlent normalement les enzymes en question : on sait qu'un excès de protoporphyrines inhibe l'activité de l'ALA déshydrase.

DAMESHEK et BALDINI (1963), ont observé l'augmentation de l'activité de l'hème synthétase après élimination du fer par des chélateurs, dans la thalassémie, laissant penser que l'excès du "feed back" exercé par l'excès de fer, est ainsi levé.

On sait maintenant que les porphyrines synthétisées dans la thalassémie ont une structure absolument normale.

En conclusion, la plupart des auteurs considéraient le trouble de la synthèse de l'hème, comme secondaire au défaut de synthèse de la globine; la diminution de l'utilisation de l'hème par la globine insuffisante entraînerait une accumulation des métabolites (hème etc), qui, par "feed back" négatif, réduiraient le taux des enzymes de la chaîne de synthèse de l'hème ; il en est de même pour l'excès de fer.

Cela pourrait expliquer le pic précoce de radioactivité de la bilirubine à trois jours, l'excès de hème étant rapidement éliminé. Le fait que, dans d'autres affections (anémie réfractaire sidéroblastique) on observe des troubles semblables, des enzymes de la synthèse de l'hème, est dans le cas de la

thalassémie un argument en faveur de l'hypothèse que ces troubles constituent un phénomène secondaire et non primaire.

Les inclusions globulaires observées chez les malades splénectomisés pourraient être dûs à l'excès d'hème inutilisé. (Observation Fessas 1963).

oOo

LA PATHOGENIE DE LA THALASSEMIE ET SES MODELES MOLECULAIRES

INTRODUCTION

Au cours de ces dernières années, de nombreux auteurs ont émis plusieurs théories pour expliquer, par un modèle génétique simple, le défaut de la synthèse des chaînes α , β et γ , que l'on rencontre dans les différentes formes de thalassémie.

Leur but, était de rendre compte au maximum par un schéma unique, des observations cliniques rencontrées dans les syndromes thalassémiques.

Les points d'impact des altérations proposés dans leur schéma, au sujet des différentes formes de la maladie se situaient pratiquement à tous les stades biochimiques qui constituent la séquence des mécanismes conduisant, de l'origine de l'information génétique au niveau chromosomique, jusqu'à la libération de la molécule d'hémoglobine par le ribosome.

Malgré les séduisantes et ingénieuses théories proposées, aucune d'entre elles, malheureusement, ne peut supporter tous les désordres que réalise le polymorphisme extrême des syndromes thalassémiques.

Théorie de la substitution d'un amino-acide

"silent-mutation"

ITANO (1957) INGRAM et ETRETTON (1959) - ont émis l'hypothèse qu'une mutation au niveau du gène de structure entraînant la substitution d'un amino-acide par un autre ralentirait la vitesse de synthèse de la chaîne polypeptidique.

Cette substitution ne changerait pas la charge de la molécule et, ne serait pas dépiستable à l'électrophorèse.

1° - Une telle substitution n'a pu être trouvée par l'étude biochimique le "finger-print" de l'HbA de la thalassémie et celle des sujets normaux sont les mêmes.

2° - Nous avons pu voir que (JONES 1961), ne parvenait pas à séparer l'hémoglobine A de thalassémie, de l'hémoglobine A de sujets normaux marqués par chromatographie sur Amberlite IRC 50 à Ph 7,2. Cette technique parvenait à séparer l'Hb A humaine de l'Hb A de gorille, qui n'avait pu jusqu'alors être séparée à l'électrophorèse sur papier à ph 7,2.

Le fait que ces deux dernières hémoglobines, ne diffèrent que par peu de choses (une cystéine), nous indique, la sensibilité de la méthode, et laisse comme seule possibilité de mutation de l'Hb A thalassémique que celle d'un acide aminé par un autre vraiment très voisins par sa structure.

D'autre part, cette mutation, aussi importante soit-elle, n'expliquerait pas semble-t-il; l'inhibition modérée de synthèse observée dans la plupart des cas.

3° - l'étude des doubles hétérozygotes " β chal" et "C" ou "S", nous a montré, qu'il y avait pas toujours une dépression totale de la synthèse de l'Hb A.

Pour toutes ces raisons, cette hypothèse semble difficilement acceptable.

Peu de temps après INGRAM et STRETTON, proposèrent leur "tap hypothèse" affirmant l'existence d'une mutation au niveau du gène contrôlant la vitesse de synthèse des chaînes.

Théories impliquant les gènes de contrôle

Ces théories considèrent que la thalassémie répond à une inhibition spécifique d'un gène de structure de l'hémoglobine, en l'absence de toute altération connue dans la séquence des bases de ce gène, durant une période de la vie dans laquelle le gène est normalement actif. (MATIOLI et ZUCKERKANDL (1963)).

INGRAM et STRETTON, ont pensé, en outre, qu'une altération de l'ordre des gènes de structure pouvait modifier leur activité de synthèse; ainsi une inversion, une délétion pourraient diminuer l'activité du gène de structure.

L'application du modèle de JACOB et MONOD, a été extrapolée à la biosynthèse de l'hémoglobine dans les cellules animales; alors, des modèles impliquant l'existence d'un gène opérateur pour ρ et δ à la fois, ou de deux gènes opérateurs respectivement pour β et pour δ , ont été décrits, (NEEL 1961, MOTULSKY 1962, GERALD 1962, STURGEON, SCHROEDER, JONES et BERGER 1963, ZUCKERKANDL 1964).

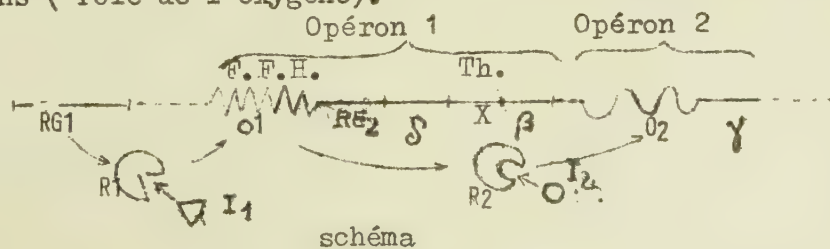
- Interprétation du schéma (a)

a - Les gènes β et δ , dépendraient d'un gène opérateur O^I , l'ensemble formant l'opéron I. Le gène opérateur O^I , est contrôlé par le gène régulateur RG_1 , qui produit le répresseur R_1 , dont l'action est de se combiner à lui pour l'inhiber. En présence d'un inducteur I_1 , le répresseur s'unit à ce dernier et son action inhibitrice est levée.

b - Le gène γ dépend d'un autre opérateur O_2 , situé sur le même chromosome. Le gène régulateur RG_2 est inclus dans l'opéron O^1 . Ce gène régulateur forme un répresseur R^2 , qui s'unit à un inducteur I^2 , avant d'aller se combiner au gène opérateur O^2 , qui commande l'opéron 2, comprenant le gène γ .

Ainsi, quand le gène RG^I fonctionne sans l'inducteur I_I , l'opéron I est inhibé, les chaînes ρ et δ ne sont pas formées, et comme RG^2 est inclus dans l'opéron 1, le gène opérateur 2 n'est pas inhibé, et la chaîne γ est synthétisée; c'est ce qui se passe pendant la vie foetale.

c - en présence d'un inducteur I_1 l'action inhibitrice du répresseur R_1 vis-à-vis, de l'opéron 1, est levée, les chaînes β et δ sont synthétisées; RG^2 fonctionne et inhibe (sans I^2) l'opéron 2, et la chaîne γ n'est pas synthétisée. C'est ce qui se passe pendant la vie adulte. A la naissance ce serait donc l'inducteur I_1 qui apparaîtrait et inverserait le fonctionnement des deux opérons (rôle de l'oxygène).



Bases expérimentales de ce modèle

Les chaînes β et δ , apparaissent en même temps au cours de la vie, car ils feraient partie du même opéron.

1 - Interaction entre les gènes β , γ , δ

Il existe un rapport inverse entre l'activité des gènes β et δ et celle du gène γ .

Ainsi, dans la persistance héréditaire de l'hémoglobine foetale ; β et δ sont réprimés et γ active.

- Il en est de même dans la β thalassémie Hb F haute thalassémie (type 2).

- Dans le syndrome avec Hb Lepore où le gène γ est activé et l'Hb F augmentée.

- Dans l'association β thal. et S, dans la forme "sans production d'Hb A", il y a plus d'Hb F que la forme "avec production d'Hb A".

Voyons séparément la dissociation des effets $\beta - \gamma$ et $\delta - \gamma$.

2 - Interaction $\beta - \gamma$

On s'est aperçu, déjà en 1955, qu'il y avait une relation inverse entre la production de la chaîne β et celle de la chaîne γ (SINGER et GOLDBERG 1955).

3 - Interaction $\delta - \gamma$

ZUKERKLANDL, 1963, a étudié la corrélation inverse qu'il existait entre le taux de chaîne β intra-cellulaire et le taux de chaîne γ dans plusieurs syndromes thalassémiques associés.

L'étude serrée des résultats a montré l'absence d'une corrélation parfaite (sur les familles de WHEELER et KREVANE 1961).

Ainsi, il n'y avait pas de relation inverse étroite entre l'activité du gène γ et celle du gène β et vice et versa.

Par contre, il existerait une corrélation inverse, statistiquement prouvée, entre le taux de chaînes δ intra-cellulaires et le taux de chaînes γ .

Nous avons déjà vu, cette relation inverse dans notre thèse, au sujet des formes majeures. Mais les résultats des dosages intra-cellulaires chez les doubles hétérozygotes dans des familles de WHEELER et KREVANS, donnent :

- doubles hétérozygotes " β thal" - "persistance de l'Hb F" : taux de δ = 0, 32 μ g.

- simples hétérozygotes " β thal" taux de δ = 0,64 μ g.

Ces données prouvent que dans le premier cas, un seul gène δ est complètement inhibé par le gène "pers. de l'Hb F", alors que le gène γ fonctionne. L'action du gène "pers. de l'Hb F", est donc limitée en cis. Le gène régulateur du gène γ n'est donc pas situé dans l'opéron I lequel est inhibé dans la "persistance de l'hémoglobine foetale". Le gène δ n'est donc pas le gène régulateur du gène γ .

4 - Siège du gène opérateur

SCHROEDER, en 1963, a comparé les extrémités des chaînes β et δ , avec celles de la chaîne γ , alors que les huit premiers acides aminés sont les mêmes pour β et δ , les acides aminés 1 et 3 sont différents d'avec la chaîne γ .

Si le gène opérateur n'est que l'extrémité d'une structure, comme dans le 2ème modèle de JACOB et MONOD, cela rendrait plus concret l'existence de gènes opérateurs respectifs par β et δ .

5 - L'inducteur I_2 serait produit, lors du "stress" (ZUCKERKANDL). Ainsi on observe, lors de certaines anémies hémolytiques une élévation de la chaîne γ . Quand la synthèse des chaînes γ est déprimée, il ne faut pas beaucoup d'inducteur pour obtenir un effet considérable (ZUCKERKANDL).

Application du modèle moléculaire

Comme pour les bactéries chez lesquels JACOB et MONOD, ont décrit des mutations, des gènes régulateurs et opérateurs, on peut formuler ici différentes mutations, et obtenir le tableau ci-après.

Grâce à ce tableau, on peut interpréter : la persistance héréditaire de l'hémoglobine foetale. Elle peut être expliquée par différentes possibilités :

a - Une mutation du gène opérateur O_1 négative proposée en 1963 par BAGLIONI : l'opéron 1 ne fonctionne alors pas les chaînes β et δ ne sont pas synthétisées, le gène régulateur RG_2 ne fabrique pas de R^2 , l'opéron 2 est alors dérégulé et le gène γ stimule au maximum.

Cet effet est limité en "cis" ; dans le cas d'un hétérozygote simple pour la persistance de Hb F, le répresseur de l'autre gène allèle RG^2 fonctionne et supplée à la défection de l'autre gène régulateur. Cette suppléance par une action à distance en "trans" dépend sûrement de l'éloignement des deux chromosomes. Néanmoins, le taux de R^2 total est inférieur à celui que produiraient les deux RG^2 à la fois et c'est là l'explication de la constance du taux de Hb F chez les malades.

D'autre part, il se produit des compensations de synthèse au niveau ribosomal entre les différentes chaînes synthétisées tendant à maintenir constante la quantité totale d'hémoglobine synthétisée.

b - Les autres possibilités sont moins intéressantes et trop théoriques.

- mutation de RG^2 constitutive (cas i)
- mutation du gène régulateur RG^I et super répression (cas b).

Dans ces deux mutations le gène opéron 2 est déprimé :

- mutation du gène opérateur O^2 constitutive (cas j) où l'action stimulante de ce gène sur le gène de structure γ est augmentée.

MUTATIONS DEDUITES DU MODELE GENETIQUE PRECEDENT

Cas	Siège de la mutation	Caractère de la mutation	Ordre de l'effet	Effet direct de la mutation	CONSEQUENCE DE LA MUTATION	
					Chez l'hétérozygote	Chez l'homozygote
a	Inducteur I ₁ s'il existe un gène qui le contrôle	Récessive	TRANS	Baisse de la combinaison de R ₁ à I ₁	HbA et HbA ² sont modérément diminuées voire normales, HbF est légèrement élevé, voire normale.	Pas de passage après la naissance de la synthèse de HbF à la synthèse de HbA et de HbA ²
b	RG1	Super répression DOMINANT	TRANS	R ₁ devient incapable de se combiner avec I ₁ , alors qu'il continue de l'être avec O ₁	La synthèse de HbA et HbA ² peut être en partie inhibée tandis que celle de l'HbF en partie augmentée, si ce mutant allèle peut saturer par son répresseur R' produit, les sites O' l'hétérozygote ne pourra être distingué de l'homozygote.	
c	O ₁	NEGATIVE RECESSIVE quant à l'effet total sur l'individu	CIS	L'état de O ¹ empêche l'expression des gènes de structure	Diminution de la synthèse de HbA et de HbA ² (CIS). Elevation de la synthèse de HbF (effet TRANS).	
d	Gène de contrôle de I ² s'il existe toutefois	RECESSIVE	TRANS	R ² ne peut se combiner avec I ²	En cas de stress; l'activation secondaire de la synthèse de HbF pendant la vie adulte sera probablement réduite.	Pas d'activation secondaire de la synthèse de l'HbF pendant la vie adulte.
e	RG2	Dominant "super répression".	TRANS	R ² cesse de se combiner avec I ² , alors qu'il continue de l'être avec O ²	Activation secondaire de la synthèse de HbF durant la vie adulte est réduite en cas de "stress" ou abolie si R ² produit par le gène mutant est capable de saturer les sites O ²	
f	O ²	Opérateur négative dominant chez le fœtus	CIS	L'état de O ² empêche l'expression des gènes de structure de l'épéron 2	Diminution de l'HbF chez le fœtus : "gamma thalassémie".	Pas de production d'HbF léthal in-utéro.
g	RG 2	CONSTITUTIVE RECESSIVE, quant à l'effet total sur l'individu	TRANS	R ¹ ne peut se combiner avec O ₁	Augmentation de HbA et de HbA ² et diminution de HbF chez le fœtus, Normal chez l'adulte	Elévation de HbA et HbA ² chez le fœtus souvent très tôt, jamais d'HbF, sauf si sa synthèse est activée secondairement par un "stress"
h	O ¹	D ²	CIS	R ¹ ne peut se combiner avec O ₁	Augmentation	
i	RG2	D ²	TRANS	R ² ne peut se combiner avec O ₂	Elévation de la synthèse de L'HbF chez l'adulte. Légère réduction de HbA et HbA ² en raison de la compétition des produits provenant des gènes β δ et γ sur un accepteur commun.	Tous les gènes de l'hémoglobine sont entièrement actifs chez l'adulte; comme chez un hétérozygote mais plus marquée.
j	O ²	CONSTITUTIVE DOMINANT	CIS			

La β Thalassémie

On sait, que dans l'association β thalassémie hémoglobine A_2^1 les taux d'Hb A_2 et d'Hb A_2^1 , sont augmentés, suggérant un effet "trans" causé par le gène thalassémique.

Cependant, certains auteurs pensent que l'augmentation de certaines fractions hémoglobiniques (comme Hb F dans la β thal-Hb S) est un phénomène de compensation qui siège au niveau ribosomal, et non un effet génique primaire, réduisant l'action du gène thalassémique à une action uniquement "cis".

Nous détaillerons ici l'interprétation de ZUKERKANDL. Selon cet auteur :

a - Il ne peut s'agir d'une mutation négative de l'opérateur O^I car, le gène δ en "cis", serait alors inhibé, alors que son activité est augmentée dans la plupart des β thalassémies.

b - Il ne peut s'agir d'une mutation dominante de RG^I , ni d'un défaut de l'inducteur I_1 ou d'un gène possible qui le contrôle, car les doubles hétérozygotes " β thal-S" par un mécanisme compensateur, peuvent faire des quantités plus grandes de Hb S. que Hb A ; le gène "S" ne semble pas réprimer alors qu'il devrait l'être ici par action en "trans".

c - Mais l'auteur admet le principe de la polarité de l'opéron en vertu duquel le gène β distant de l'opérateur O^I recevrait moins bien sa commande, en raison de son éloignement, que le gène δ plus proche. La β thalassémie résulterait d'une mutation en un lieu X inconnu, situé entre δ et β , empêchant β de recevoir le message de synthèse du gène opérateur O_1 . Dans cette conception, il faut placer volontairement β distalement par rapport au gène O^I .

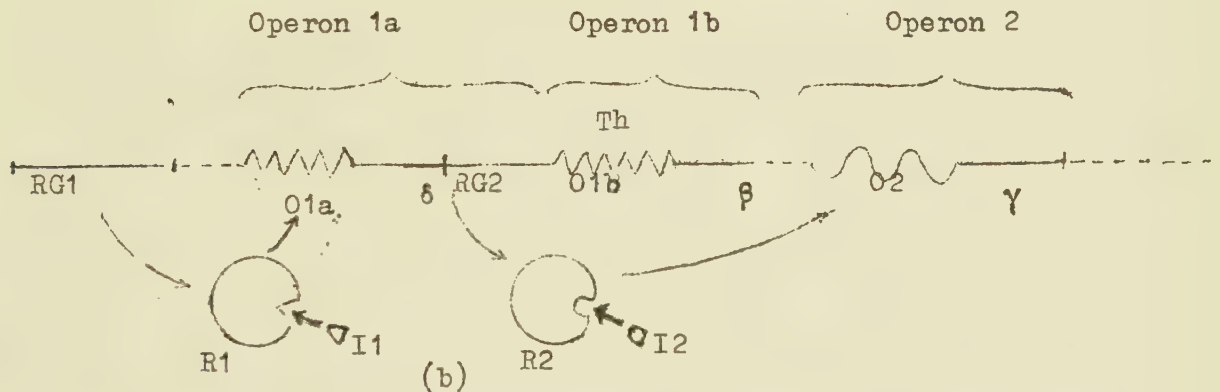
Cette mutation pourrait être également remplacée au lieu X soit par une inversion, soit par une translocation changeant le sens de la polarité.

En conséquence les gènes δ et RG2 fonctionneraient normalement, le gène β serait inhibé, la chaîne δ serait produite en excès par compensation, le gène γ lui n'est pas affecté par la mutation (reste réprimée).

Pour expliquer les cas avec augmentation de Hb F, l'auteur ferait intervenir l'inducteur I2. Cependant ce modèle rend mal compte de la variabilité du taux d'HbA2 observée chez les hétérozygotes.

d - un autre modèle (voir schéma (b)) possible ferait intervenir la présence de deux opérateurs séparés O1a pour le gène δ et O1b pour le gène β . Dans ce cas, la " β thalassémie avec Hb A2 haute", résulterait d'une mutation de O1b et la δ thalassémie d'une mutation de O1a.

Toutefois, la persistance héréditaire de l'hémoglobine foetale nécessiterait, dans cette hypothèse, une double mutation de O1a et de O1b, ce qui est excessif.



Modèle de régulation de la synthèse des chaînes. O : gène opérateur ; RG : gène régulateur ; R : molécule de répresseur synthétisée sous le contrôle de RG ; I : inducteur ; δ β et γ : gènes de structure des chaînes de l'hémoglobine ; X : gène de structure inconnu ; Th : siège possible de la mutation de la β thalassémie.

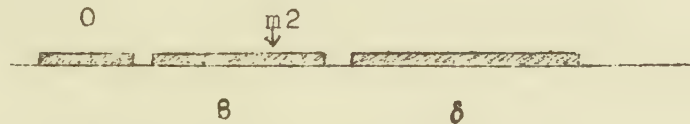
a) STENT (1964), utilise d'une manière différente le modèle de l'opéron. S'appuyant sur l'effet de polarité du message issu du gène opérateur dans l'opéron, l'auteur en déduit, dans le cas de la thalassémie, qu'une mutation au niveau de celui des gènes β ou δ proximal par rapport au gène opérateur OI, se traduirait :

d'une part, par une chaîne α ou δ anormale comportant une "silent-mutation" ;

d'autre part, retentirait suivant son siège sur le gène affecté par un arrêt plus ou moins grand du message issu du gène OI entraînant une inhibition plus ou moins grande de celui des gènes α ou δ distal par rapport à OI.



Ainsi, la mutation $m1$, s'accompagnerait d'une chaîne delta à synthèse quasi-normale, alors que la mutation $m2$ s'accompagnerait d'une dépression de la chaîne δ



Théorie de la duplication des gènes et du crossing over inégal

(NANCE 1963)

La théorie de NANCE, repose sur les principes suivants : que les trois gènes α , γ et δ , sont situés sur un même chromosome et que les trois chaînes correspondantes n'ont que peu de différence entre elles.

Cette dernière donnée, a amené d'ailleurs à penser que les trois gènes dériveraient l'une de l'autre par duplication.

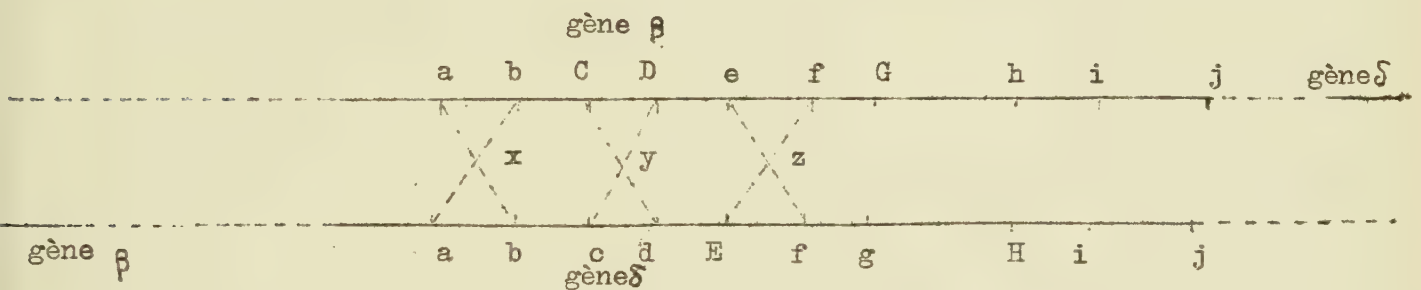
NANCE, explique les modalités d'un crossing-over inégal aboutissant au cours d'une méiose à une duplication génique.

Par ce processus, on peut aboutir au cours de générations successives à obtenir des duplications en nombre croissant (duplications, triplifications, etc...) ; le nombre optimal de duplications d'un gène serait, selon NANCE, celui permis par la sélection naturelle.

Un crossing-over anormal pourrait bien se produire entre deux gènes non homologues, mais différant très peu de l'autre, (tels les gènes α et δ), puisque au niveau de ses points d'échange la séquence des nucléotides peut être la même. En supposant que ce crossing-over ait lieu au niveau du début de ces deux gènes là où la séquence des nucléotides ne présente pas encore de différences, on obtient alors deux chromosomes : l'un porteur d'un gène d'une variété et d'une duplication du gène et l'autre variété (par exemple, un gène β et deux gènes δ), l'autre porteur d'un seul gène de la deuxième variété (par exemple, un seul gène δ).

Dans ces conditions, une inversion, une translocation qui pourraient supprimer ce crossing-over inégal et empêcher la duplication de se produire, auraient un avantage sélectif.

Donnons un exemple de crossing-over inégal entre le gène α et le gène δ .



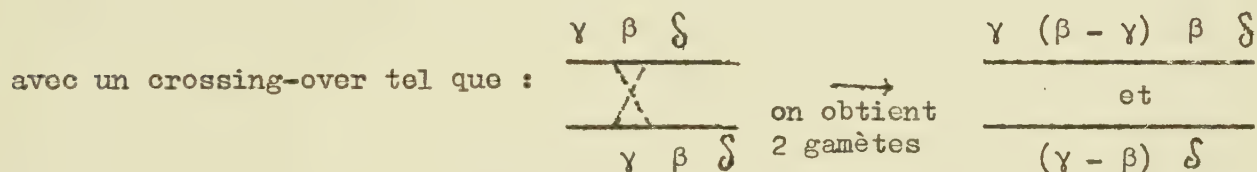
Si le crossing-over se produit entre a et b d'une part, on obtient après recombinaison deux chromosomes, l'un avec deux gènes α et un gène δ , l'autre avec un seul gène δ (crossing-over x).

Si le crossing-over a lieu entre C et D, d'un chromosome c et d, de l'autre chromosome on obtient, après recombinaison, un chromosome porteur d'un gène δ ayant une mutation (C), et un autre chromosome ayant un gène α normal, un gène β avec une mutation (c), et un gène δ normal (crossing-over y).

Si le crossing-over a lieu entre E et f, d'un chromosome et e et f, de l'autre chromosome, on obtient après recombinaison un chromosome porteur d'un gène constitué d'une partie du gène β et d'une partie du gène δ . (gène de fusion) et d'un autre chromosome porteur d'un gène β , d'un gène de fusion et d'un gène δ (crossing-over z). La structure du gène de fusion peut se traduire par une diminution de l'activité de synthèse de trois manières possibles :

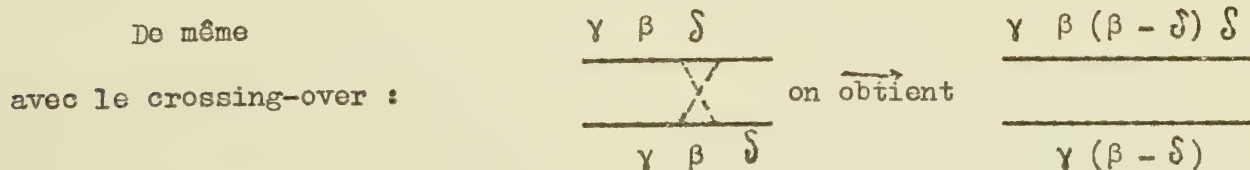
- en empêchant la transmission de l'ARN messenger qu'il commande et l'ARN messenger.
- par compétition entre l'ARN messenger qu'il commande et l'ARN messenger qu'il commande et l'ARN messenger de l'allèle normale, au niveau du ribosome.
- en dirigeant la synthèse d'une protéine anormale physiologiquement inactive , mais freinant toujours la synthèse par "feed-back" négatif.

Ainsi, suivant le siège d'un "crossing-over" par rapport aux gènes γ et δ on obtient les résultats suivants :



On remarque que le chromosome recombiné $(\gamma - \beta) \delta$ contient le gène de fusion $(\gamma - \beta)$ et le gène δ normal.

Ce serait un tel chromosome qui serait responsable de la Thalassémie Hb A2 high, car le "feed-back" ne s'exerce pas sur l'activité de δ ici existant.



Le chromosome obtenu $\sqrt{(\beta-\delta)}$ contient le gène de fusion $\beta-\delta$, susceptible de ralentir la synthèse de la chaîne correspondante et le gène γ normal. Pour NANCE, ce chromosome serait responsable de la " β thalassémie avec HbF haute".

NANCE postule ainsi que tous les syndromes thalassémiques peuvent être expliqués par l'existence de tels allèles anormaux, produits d'un inégal "crossing-over".

Selon le siège du "crossing-over" inégal par rapport aux chaînes β et δ , les résultats obtenus diffèrent :

- Si ce "crossing-over" siège entre les positions d'acides aminés 9 et 12, il y a formation d'un gène porteur d'une ou de deux substitutions d'acides aminés.

- Si le "crossing-over" siège beaucoup plus loin, on obtient un gène de fusion très particulier.

Mais pour que ce genre de schéma puisse s'appliquer à la thalassémie, il faut supposer en outre, que le produit de synthèse du gène de fusion ait le même comportement électrophorétique que l'hémoglobine adulte normale.

Le mécanisme du crossing-over inégal, dans un autre domaine, celui de l'haptoglobine, a permis à SMITHIES en 1962 de concevoir un système évolutif faisant intervenir la duplication génique permettant d'expliquer les différents phénotypes caractérisés par des variations de longueur des chaînes d'haptoglobine.

Il nous intéresse dans le cas d'un syndrome thalassémique fondamental : l'hémoglobine Lepore.

De nombreux arguments de duplication génique basés sur crossing-over inégal existent. On peut citer comme molécules types :

les hormones post-hypophysaires : ocytocine, vasopressine, vasotocine, isotocine (l'homme ne possède que les deux premières) ; les mélanotropines (α et β M.S.H.), et l'ACTH ; différentes endopeptidases de mammifères qui possèdent des sites actifs communs (sérine et histidine) et des séquences communes telles les chymotrypsines A et B, la trypsine, l'élastase ; les iso-enzymes comme les lacticodeshydrogénases, les 3 phosphoglycéraldéhyde-deshydrogénases, les aldolases, les phosphorylases, les UDPG glucosyl-transférases, tous enzymes du métabolisme du glycogène, et enfin, les iso-cytochromes C.

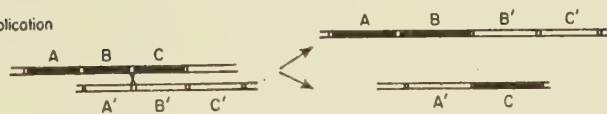
Table 2. Genotypes of certain heritable disorders of hemoglobin synthesis.

Condition	Possible genotypes	
	Heterozygous	Homozygous
Thalassemia		
With high A ₂	$\frac{\gamma(\beta-\gamma)^* \beta \delta}{\gamma \beta \delta}$	$\frac{\gamma(\beta-\gamma)^* \beta \delta}{\gamma(\beta-\gamma)^* \beta \delta}$
With high fetal hemoglobin	$\frac{\gamma \beta(\delta-\beta)^* \delta}{\gamma \beta \delta}$	$\frac{\gamma \beta(\delta-\beta)^* \delta}{\gamma \beta(\delta-\beta)^* \delta}$
Interacting	$\frac{\gamma \delta}{\gamma \beta^R \delta}$	
Noninteracting	$\frac{\gamma \beta(\delta-\beta)^* \delta}{\gamma \beta^R \delta}$	$\frac{\gamma \beta^R(\delta-\beta)^* \delta}{\gamma \beta^R(\delta-\beta)^* \delta}$
High fetal syndrome		
With A and A ₂	$\frac{\gamma \delta}{\gamma \beta \delta}$	
Without A		$\frac{\gamma \delta}{\gamma \delta}$
Without A or A ₂		$\frac{\gamma}{\gamma}$
<i>β-δ de Fessas.</i> With anemia	$\frac{\gamma(\beta-\delta)^*}{\gamma \beta \delta}$	
High A ₂ syndrome		
	$\frac{\gamma \beta \delta \delta}{\gamma \beta \delta}$	$\frac{\gamma \beta \delta \delta}{\gamma \beta \delta \delta}$
A ₂ lacking		
		$\frac{\gamma \beta}{\gamma \beta}$
Lepore traits		
With high A ₂	$\frac{\gamma(\beta-\gamma) \beta \delta}{\gamma \beta \delta}$	$\frac{\gamma(\beta-\gamma) \beta \delta}{\gamma(\beta-\gamma) \beta \delta}$
With normal A ₂	$\frac{\gamma \beta(\delta-\beta) \delta}{\gamma \beta \delta}$	$\frac{\gamma \beta(\delta-\beta) \delta}{\gamma \beta(\delta-\beta) \delta}$
With no A or A ₂		$\frac{\gamma(\beta-\delta)}{\gamma(\beta-\delta)}$
Bart's		
	$\frac{\gamma \gamma \beta \delta}{\gamma \beta \delta}$	$\frac{\gamma \gamma \beta \delta}{\gamma \gamma \beta \delta}$
H, dominant inheritance		
	$\frac{\gamma \beta(\delta-\gamma)^* \beta \delta}{\gamma \beta \delta}$	
H, recessive inheritance		
		$\frac{\gamma \beta \beta \delta}{\gamma \beta \beta \delta}$
Bart's + H		
	$\frac{\gamma \beta \gamma \beta \delta}{\gamma \beta \delta}$	

Selon NANCE (1963)

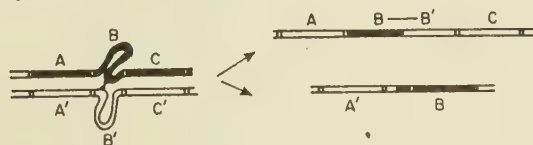
(1963).

(a) Complete duplication



(b) Partial duplication

(1) of allelic genes



(2) of non-allelic genes



Modes de duplications géniques d'après DIXON (1966)

Autres modèles génétiques

En 1963, INGRAMM et STRETTON, ont suggéré que l'ARN messager des chaînes affectées, était anormal et bloquerait la synthèse de l'hémoglobine au niveau du ribosome ; cet effet serait dû, par exemple, à une délétion ou alors au fait que l'ARN messager serait moins stable que l'ARN normal, et conduirait à des chaînes polypeptidiques incomplètes. Ceci semble être confirmé par un travail sur certains mutants de phages (AMBER et O CHRE, STRETTON 1965).

La plus récente théorie est celle d'ITANO (1965).

Elle repose sur la dégénérescence du code génétique. Ce terme signifie que chaque acide aminé peut être codé par plus d'un triplet. Il y a donc, plus de 20 codons pour les 20 acides aminés, mais moins toutefois, que les 64 triplets que l'on s'attendrait à avoir une combinaison des quatre bases.

Chaque acide aminé peut être codé par un, deux, trois voire quatre codons différents (leucine par exemple). Les codons d'un même acide aminé différent, en général, par une seule des trois bases (ex : GGU et GGA pour le glycocolle) ; il s'agit en général de la troisième base ; la base centrale semble la plus invariante.

Certaines mutations d'une des trois bases d'un codon peuvent aboutir :

' - soit au remplacement de l'acide aminé correspondant par un autre acide aminé, si le codon obtenu alors, lui correspond ; la vitesse de synthèse de la chaîne polypeptidique peut être ralentie parce que l'ARN de transfert de ce nouvel acide aminé est en quantité moindre.

 - soit à la conservation de l'acide aminé de la chaîne grâce à la dégénérescence du code génétique, la mutation d'une seule base formant un nouveau codon correspondant toujours au même acide aminé mais nécessitant un ARN_T différent. Ce processus diminue le nombre de mutations apparentes et, par conséquent, la létalité.

En utilisant cette dernière conception, ITANO explique la thalassémie dans laquelle l'hémoglobine adulte des homozygotes semble manifestement la même que l'Hb A normale. Il suppose que le nouvel ARN_T correspondant au même acide aminé serait plus labile quant à son existence, ou bien déficient quantitativement, que l'ARN_T normal, et ralentirait ainsi la vitesse de synthèse de la chaîne polypeptidique.

REMARQUES ET DEDUCTIONS PERSONNELLES

On sait par les études paléontologiques que la thalassémie aurait affecté certaines peuplades anciennes. Si les lésions sur lesquelles on se base pour émettre cette hypothèse correspondent à d'authentiques syndromes thalassémiques, on peut alors remarquer que la thalassémie aurait affecté des peuplades anciennes vivant en des régions du globe très différentes : Les squelettes témoins ont, en effet, été trouvés au Pérou, en Arkansas, au Mexique, en Sicile, en France gallo-romaine et en Egypte.

La diversité de ces régions est assez incompatible avec l'hypothèse suggérée par de nombreux auteurs selon laquelle les migrations humaines, les conquêtes et le commerce auraient colporté le gène d'un continent à l'autre. En effet, en ces temps reculés, plusieurs régions étaient encore impénétrées, et leurs habitants vivaient à l'état de tribus, où la forte consanguinité a même pu être la cause de leur extinction, multiplication des formes homozygotes de thalassémie.

En d'autres termes, les constatations paléontologiques tendent plutôt à refuter l'hypothèse selon laquelle le gène thalassémique proviendrait d'une mutation unique qui se serait multipliée et répandue au cours des siècles. Elles tendent plutôt à faire admettre la possibilité de mutation qui se seraient produites en différents points du globe indépendamment les unes des autres.

Ainsi, la mutation thalassémique pourrait s'être répétée à plusieurs reprises différentes, et ne pas provenir de la multiplication d'une mutation unique ancestrale.

Sur le plan génétique, cela revient à admettre la possibilité d'une mutation préférentielle en un siège électif du génome, aboutissant au caractère thalassémique ; un site donné d'un chromosome muterait de préférence.

A l'appui de cette suggestion, vient le fait que les biochimistes ont très souvent rencontré des mutations qui ne touchent qu'une ou deux positions privilégiées de toute une chaîne polypeptidique ; d'une manière générale en supposant qu'un site génétique mute toutes les 10^6 générations, on en déduit que depuis le début des vertébrés, soit 10^8 générations, il y aurait cent à mille mutations pour chaque gène ; c'est beaucoup plus qu'il n'en faut pour transformer toute une chaîne polypeptidique ; or, on sait qu'une chaîne polypeptidique n'est changée qu'au niveau de certaines positions, et que de nombreuses autres ne sont jamais changées ; de même, si l'on compare une chaîne polypeptidique donnée dans de nombreuses espèces différentes, on s'aperçoit, même en remontant aux espèces les plus inférieures, qu'il n'y a que certains acides aminés en des positions données qui

les différencient. La cause de mutations préférentielles de certains points du génome est encore inconnue mais sa réalité repose sur des données biochimiques solides : ainsi, dans le cas des microorganismes on connaît des enzymes qui mutent de manière systématique au niveau de mêmes acides aminés (par exemple la tryptophane synthétase), que les mutations se soient produites de façon spontanée ou provoquée au moyen d'agents mutagènes. C'est pourquoi il semble qu'il existe vraiment des mutations préférentielles au niveau de certains triplets de l'ADN.

Dans la thalassémie une telle mutation préférentielle au niveau de nucléotides pourrait, éventuellement, siéger :

- soit au niveau du gène de structure ; dans ce cas, il y a formation d'une hémoglobine anormale ; En ce qui concerne la thalassémie, on retrouve la théorie de la "silent-mutation" d'INGRAM qui postule un changement d'acide aminé ou alors la théorie récente d'ITANO, qui reconnaît une mutation de nucléotides sans mutation d'acide aminé.

- soit au niveau des gènes de contrôle et nous retrouvons, alors, les différentes théories qui font jouer un grand rôle aux mutations des gènes du système régulateur.

Rappelons, au sujet des mutations du système régulateur, que PARKER et BEARN, ont établi une liste d'entités cliniques ou un déficit d'une protéine pourrait relever d'un tel mécanisme : exemple l'hémophilie, les $A\alpha$ et $A\beta$, les glycogènes, certains phénotypes d'haptoglobine Hp2-IM, (absence de Hp2) et Hp0 (absence totale d'haptoglobine, persistance héréditaire de l'hémoglobine foetale etc, etc...)

Ainsi, l'application de la théorie de NANCE, au syndrome thalassémique se schématise de la manière suivante :

1 - par suite de "crossing-over" inégal le génotype des sujets porté à l'état hétérozygote ou homozygote, un gène de fusion, plus un ou plusieurs gènes normaux β , γ et δ , chacun en un ou plusieurs exemplaires.

2 - le gène de fusion est dérivé, on le sait, d'un crossing-over entre deux gènes simples ; la synthèse de la chaîne correspondante du gène de fusion freine celle des deux gènes normaux, dont dérive le gène de fusion, si ceux-ci sont présents dans le génome à un ou plusieurs exemplaires.

Par exemple, le gène ($\beta - \delta$) freine la synthèse des chaînes β et δ , même si les gènes β et δ normaux existent sur le même chromosome.

3 - en l'absence de gènes de fusion, c'est le nombre relatif d'exemplaires de chaque gène simple qui commande l'intensité de la synthèse de la chaîne correspondante.

On constate, ainsi, que la thalassémie α , n'implique pas de gène de fusion ; l'Hb Bart's serait due à deux gènes γ , l'Hb H a deux gènes β etc...

En conclusion, aussi séduisante soit-elle, cette hypothèse explique beaucoup mieux la formation de l'Hb Lepore que les autres syndromes thalassémiques, où elle soulève des problèmes beaucoup trop théoriques.

Asynchronisme de libération des chaînes au niveau ribosomal

WEATHERALL, en 1964, a observé dans l'hémoglobinopathie H, une augmentation du taux de chaîne β intra-cellulaire ; cela vient confirmer ce que l'on pensait déjà, à savoir, une insuffisance de la vitesse de synthèse des chaînes α dans ce syndrome. Cette donnée suggère ainsi que les chaînes β peuvent être libérées par le ribosome indépendamment des chaînes α

Pour certains auteurs, la dépression des chaînes α dans l'alpha-thalassémie, pourrait mieux être interprétée à un niveau ribosomal qu'à un niveau génique.

Les chaînes β en excès seraient ainsi relâchées par le ribosome et formeraient le tétramère β_4 ou Hb H. Il en est de même pour l'excès de chaînes γ formant γ_4 ou Hb Bart's.

SHOOTER en 1962 et BAGLIONI en 1963, ont constaté "in-vitro" que les ribosomes de réticulocytes de lapin libèrent moins bien les chaînes que les chaînes β . Ces faits ne sont pas sans rapprochement avec ceux constatés précédemment dans l'hémoglobinopathie H.

Quoiqu'il en soit, que le mécanisme se fasse au niveau des gènes eux-mêmes, ou par un asynchronisme de synthèse des chaînes α et β au niveau ribosomal, le résultat est une insuffisance de chaînes α . Les chaînes α étant communes aux hémoglobines A₂, A et F, les proportions de ces dernières ne sont pas changées dans l'alpha-thalassémie, et il se forme de petites quantités d'hémoglobine instables d'Hb H et d'Hb Bart's (γ_4)

L'asynchronisme de la vitesse de libération des chaînes est prôné par les données de FESSAS & LOUKOPOULOS, qui trouvent dans la β thalassémie la présence de chaînes α dans le sang périphérique ; ils en déduisent que les inclusions des cellules rouges qu'ils observaient chez ces malades correspondaient à des chaînes α dénaturées.

Rôle des facteurs non génétiques

La variabilité de certaines données relatives à l'hémoglobine observées dans une même famille de thalassémiques ou chez un même individu permet de penser qu'il existe des facteurs extrinsèques ayant un certain rôle, ainsi, la répartition hétérogène de l'Hb F dans les globules rouges des thalassémiques n'est pas, en raison même de cette hétérogénéité, un caractère apte à être transmis génétiquement.

Les variations du taux d'Hb F dans les familles où il existe des thalassémiques hétérozygotes en fait aussi foi ; il en est de même pour le taux d'Hb A2 . On sait par exemple que la carence en fer et en acide folique modifie le taux d'Hb A2.

En conclusion. : De tout ce qui précède, on peut déduire qu'il n'existe aucun modèle génétique unique, qui peut à lui seul expliquer toutes les observations cliniques rencontrées dans les syndromes thalassémiques.

Néanmoins, les théories étudiées, ici, ouvrent aux chercheurs un vaste domaine d'investigations futures.

L'HEMOGLOBINE DE TYPE FOETAL DANS LA THALASSEMIE

Nous ferons brièvement l'historique des travaux qui ont permis de caractériser dans la thalassémie une hémoglobine de type foetal.

Dénaturation alcaline :

Nous rappellerons la propriété essentielle de l'hémoglobine foetale normale présente dans le sang du cordon, de résister à la dénaturation alcaline.

En effet, elle ne se dénature qu'en deux ou trois heures alors que toutes les autres hémoglobines se dénaturent en quelques minutes. Seule l'hémoglobine Bart's tétramère de chaînes gamma est aussi alcali-résistante, mais moins que l'Hb F, et s'en distingue par son comportement électrophorétique.

Cette propriété de l'hémoglobine foetale est utilisée dans différentes méthodes de dosage : après action des alcalins pendant un temps court, sur un mélange d'hémoglobines, il ne reste plus, en solution que l'hémoglobine F.

Pour la première fois, VECHIO (1946, 1948 et 1950), dans une série de communications, a mis en évidence l'extraordinaire allongement du temps de dénaturation aux alcalis, effectuée par la méthode de KRUGER, de l'Hb chez les malades atteints de maladie de COOLEY ; allongement allant jusqu'à 160 minutes (valeurs normales de 35 à 45 secondes). Dans d'autres anémies hémolytiques VECHIO ne rencontrait pas un tel phénomène.

En 1948, PUTIGNANO et FIORE DONATI retrouvent cette augmentation du temps de dénaturation alcaline chez des malades atteints de maladie de COOLEY, dont certains avaient été splénectomisés.

Ces auteurs avec PEROSA et COGNETTI en 1952 mesurent les taux moyens de dénaturation alcaline avec de la scude $\frac{N}{4}$ et $\frac{N}{6}$. Ces temps sont extrêmement augmentés dans la forme majeure et modérément augmentés dans la forme mineure, et dans beaucoup de formes minimes.

En 1951, SINGER et CHERNOFF trouvaient au moyen de la dénaturation alcaline à pH 12,7 en une minute des taux d'Hb anormale, variant entre 1 et 30 %, et on en déduit une équation.

PENATI, TURCO et LOVISETTO en 1954, par la méthode de dénaturation alcaline fractionnée de SINGER, ont constaté sur une trentaine de thalassémies, dont 26 formes majeures, une moyenne d'Hb alcali-résistante de 59,5 % avec une déviation standard de 21 %. De plus, ils constatent que les résultats se groupent autour de deux valeurs, l'une de 50 %, l'autre de 80 %.

Ils mesurent aussi, le coefficient angulaire de la dénaturation de la fraction alcali-résistante en fonction du temps, dans la thalassémie majeure ; les limites des valeurs obtenues sont voisines de celles de l'Hb du sang du cordon (Hb F).

La méthode utilisée encore actuellement pour déterminer le taux de la fraction alcalino-résistante est celle de BETKE, MARTI et SCHLICHT (1959).

Elle consiste à dénaturer en un temps court, la fraction alcali-sensible puis à précipiter cette dernière avec le sulfate d'ammonium, et à faire ensuite une filtration. On suit, alors, au photomètre à 540 m l'extinction lumineuse du filtrat de la dénaturation de la fraction alcali-résistante.

BETKE (en 1958) décrit deux variantes, suivant qu'il élimine par filtration ou pas, la fraction alcali-sensible.

PENATI, TURCO et LOVISETTO en 1954 ont montré qu'avec précipitation le taux d'Hb F était légèrement plus grand que sans précipitation.

Ils observaient ainsi dans la maladie de COOLEY une moyenne de 20 à 30 % d'Hb alcali-résistante avec une marge d'erreur de 11 % due à la méthode employée.

AGNISETTA et MASSENTI ont montré une certaine corrélation entre le taux d'Hb alcali-résistante et l'hyper-résistance osmotique globulaire.

Antigénicité

En 1950 VECHIO et BARBAGALLO, par une méthode immunologique observent, dans l'anémie de COOLEY, une fraction antigénique qui se comportait comme l'Hb du fœtus.

CHERNOFF, en 1953, mesure par une méthode immunologique quantitative, le pourcentage d'Hb F, dans la maladie de COOLEY ; les valeurs obtenues présentent une identité absolue avec celles que fournit la dénaturation alcaline.

BISERTE, HAVEZ et FONTAINE ont étudié récemment (en 1965) d'une manière plus précise l'antigénicité des chaînes des hémoglobines adultes et fœtales.

La méthode utilisée est la suivante :

a - L'hémolysat de globules rouges de sang de cordon est dénaturée en un temps court par la soude pour éliminer la fraction alcali-sensible.

Puis la globine est précipitée, comme classiquement, par l'acétone laissant l'hème en solution.

b - La globine extraite est ensuite dissoute dans une solution d'acide formique, et la solution est mélangée à de la résine Amberlite GC50.

Ce mélange est ensuite versé sur une colonne de chromatographie Amberlite GC50 à 25 degrés.

c - L'élution utilise une solution d'urée concentrée à trois M, à pH 1,9 qui dissocie les chaînes de la globine. Cette solution est enrichie

progressivement en urée de manière à réaliser un gradient de concentration croissante de type convexe.

Les chaînes α et γ sont éluées séparément, et au moment de leur élution, on interrompt momentanément le gradient, pour obtenir une meilleure séparation. Les deux chaînes sont séparées pour des concentrations d'urée différentes.

d - Par immuno-électrophorèse, on sait que l'on obtient un arc de précipitation, très net, entre un immunsérum anti Hb F et une solution d'Hb F (arc, coloré de l'amido-Schwartz).

Cet immunsérum donne également un petit arc avec Hb A ; lorsque l'on sature l'Hb A par 6 mg de chaînes α , cet arc n'apparaît plus ; si l'on sature la solution d'Hb F par 6 mg de chaînes α , l'arc de précipitation avec immunsérum persiste.

Ces résultats confirment l'antigénicité spécifique des chaînes γ .

Un procédé semblable permet de montrer une spécificité moindre, mais effective des chaînes β .

De telles expériences permettraient d'affirmer peut-être l'existence de chaînes γ dans le constituant de l'hémoglobine de type foetal de la thalassémie majeure.

Dénaturation acide :

L'étude de la dénaturation acide de la carboxyhémoglobine de thalassémie majeure, a été effectuée par PUITIGNANO et COGNETTI en 1952 ; ils trouvent une résistance un peu plus élevée de cette Hb par rapport à celle de la carboxyhémoglobine foetale.

En 1955, PENATI, TURCO et LOVISETTO ont suivi photométriquement l'évolution de la dénaturation acide de l'Hb de thalassémie majeure, et n'ont pas trouvé de différence avec l'Hb foetale.

Cristallisation - Ultra-violet - Infra-Rouge :

LIQUORI et BERTINOTTI en 1951 ont contribué au rapprochement de l'Hb F et l'Hb de type foetal de thalassémie majeure.

L'oxyhémoglobine de la maladie de COOLEY présentait une cristallisation semblable à celle de l'Hb foetale.

Par étude de la solubilité de l'hémoglobine de thalassémique à l'état oxygéné, et à l'état réduit dans des tampons potassiques de pH 6,8, et de force ionique 5, ces auteurs ont montré le comportement différent de cette hémoglobine et l'hémoglobine normale, mais un comportement semblable avec l'hémoglobine foetale.

Par dénaturation alcaline, ils ont montré (en 1951) que l'hémoglobine des thalassémiques comportait deux types d'hémoglobine qui se dénaturent à vitesse différente. Le taux d'hémoglobine alcali-résistante était obtenu par extrapolation au temps zéro, après un certain temps de réaction.

Au moyen du spectre ultra-violet, ils ont montré que la bande d'absorption du tryptophane de l'hémoglobine de thalassémie majeure se situe entre 2.895 Angstroms et 2.900 Angstroms ; ces valeurs sont les mêmes que celles qui limitent la bande d'absorption du tryptophane dans l'hémoglobine foetale.

Dans la thalassémie minime, la bande d'absorption du tryptophane se situait entre 2.905 Angstroms et 2.908 Angstroms, valeurs qui se superposent à celles observées pour la bande d'absorption correspondante de l'Hb A.

Les données spectroscopiques concernant la bande d'absorption du tryptophane permettraient d'en déduire les quantités relatives d'Hb A et d'Hb F, dans un sang de thalassémique.

PENATI et TURCO en 1955 ont étudié le spectre infra-rouge dans la région située entre 2μ et 11μ .

La bande d'absorption observée à $8,03\mu$ serait propre à l'hémoglobine adulte, celle à $7,7\mu$ serait caractéristique de l'hémoglobine adulte. Les auteurs notaient que le pigment hémoglobinique de la maladie de COOLEY présen-

tait des variations d'intensité sur quelques bandes et en particulier sur sa bande principale, située à $7,7 \mu$; ils attribuaient ces faits à une différence de configuration spatiale entre une partie de la chaîne polypeptidique de l'hémoglobine de type foetal de la thalassémie et la partie correspondante de la chaîne de l'hémoglobine foetale.

Chromatographies

Les études chromatographiques ont été faites par SANSONE en 1950, qui utilisait la chromatographie ascendante sur papier avec, comme solvant, de la pyridine à 90 %. Dans ces conditions, l'hémoglobine adulte forme une tache, plusieurs centimètres au-dessus de la ligne de départ ; l'hémoglobine foetale se déplace moins que la précédente et demeure toujours sur la ligne de départ, en continuité avec elle.

L'hémoglobine de thalassémie majeure se comporte comme cette dernière.

Des études faites en chromatographie bi-dimensionnelles (PENATI et TURCO en 1954) donnent des résultats semblables.

En outre, la mesure des R_F montre la même valeur pour l'hémoglobine de thalassémie majeure et pour l'hémoglobine foetale.

Les méthodes de solubilité :

L'étude de la solubilité des différentes fractions hémoglobiniques montrent que l'Hb F est plus soluble que l'Hb A dans des solutions salines de concentration croissante (relargage).

En France DERRIEN et ROCHE (1953) ont, grâce à toute une série de recherches très précises, étudié, la courbe de solubilité de l'oxyhémoglobine de thalassémie majeure. La forme de la courbe était en faveur de l'existence de deux fractions F_1 et F_2 d'hémoglobine foetale dont ils pouvaient faire le dosage.

PAGLIARDI et VITELLI en 1954 ont mis en évidence le fait que la solubilité de l'hémoglobine A était moindre que celle de l'hémoglobine de thalassémie majeure, dans des solutions tampons de phosphate de potassium.

GIRAUD et ORSINI en 1956 ont présenté la courbe de relargage des fractions hémoglobiniques dans la thalassémie majeure. Pour des concentrations croissantes salines, on note un premier pic de précipitation de Hb A à 80 % de sel environ ; un deuxième pic bien plus ample que le premier, avec un petit épaulement de la branche ascendante qui correspond à la précipitation de la fraction A₂, puis le sommet qui correspond à la précipitation d'une fraction F₁, et ensuite, un épaulement très net au niveau de la branche descendante qui correspond à la précipitation d'une fraction F₂ ; enfin, pour des concentrations un peu plus grandes de sel (90 %), un troisième pic plus petit apparaît, qui met en évidence la précipitation d'une fraction F₃.

En 1959, DERRIEN montre cependant une différence entre la solubilité de l'hémoglobine foetale et celle de type foetal de thalassémie.

Les études électrophorétiques, effectuées par RICH en 1952, sur l'Hb CO, ont été faites avec des tampons phosphate de forces ioniques très basses et de pH variables (5,9 et 7).

Ceci permettrait d'accroître le pouvoir séparateur de l'électrophorèse, pour des concentrations basses en hémoglobine.

L'hémoglobine de thalassémie majeure présente dans ces conditions, un pic principal moins mobile qui s'identifie à l'hémoglobine foetale et un pic accessoire plus mobile qui s'identifie à l'hémoglobine adulte.

Cet auteur concluait que les malades n'ayant pas reçu de transfusions, atteints de maladie de COOLEY, avaient un taux d'Hb foetale de 90 à 100 %.

VECHIO, en 1953, retrouve dans la thalassémie majeure une proportion importante d'hémoglobine de type foetal à comportement électrophorétique identique à l'hémoglobine foetale.

PENATI et TURCO, 1955, ont pu étudier électrophorétiquement de nombreux cas de maladie de COOLEY, de thalassémie mineure et de microcytémie

constitutionnelle. Dans la maladie de COOLEY, ils observaient deux composantes à mobilité anodique ; la plus mobile correspond à l'hémoglobine adulte, la moins mobile à l'hémoglobine foetale. Sur le diagramme électrophorétique, ils observaient, au niveau de la branche ascendante de la fraction principale, la présence d'un composant mineur "a", non héminique.

Dans les formes minimales, ces auteurs ne trouvaient que des taux faibles d'hémoglobine foetale.

Biochimiquement SCHAPIRA et DREYFUS (1954) ont retrouvé de nombreux groupements Glycine N-terminaux, dans l'hémoglobine de la maladie de COOLEY, comme dans la structure normale de la chaîne de l'hémoglobine foetale.

En conclusion, toutes ces données montrent la présence en quantité variable dans l'anémie de COOLEY, d'un pigment anormal qui a tous les caractères physico-chimiques de celui du fœtus.

Méthodes de dosage de l'hémoglobine foetale

En plus, de la méthode de BETKE, MARTI et SLICHT, pour doser l'Hb F, que nous avons déjà vu, et qui donne pour taux normal d'Hb F, 0,5 à 1 %, nous possédons des méthodes plus récentes :

1 - La méthode de BEAVEN, ELLIS et WHITE (1960), extrêmement précise, associe la dénaturation alcaline et l'étude spectroscopique du phénomène ; le taux d'Hb F est obtenu par extrapolation au temps zéro sur l'axe des ordonnées, lorsque la courbe de dénaturation devient linéaire.

2 - La chromatographie sur colonne Amberlite et I.R.C. 50 (ALLEN et SCHROEDER 1958).

3 - La méthode de HUISMAN et MEYERING étudie la vitesse de dénaturation alcaline.

Répartition intra-cellulaire de l'hémoglobine foetale

La technique d'élution acide de KLEIHAUER, BRAUN et BETKE (1959) nous en permet l'appréciation.

Dans cette méthode l'hémoglobine adulte est éliminée des hématies et laisse apparaître très nettement les hématies contenant de l'Hb F, qui apparaissent foncées alors que les autres semblent "vidées".

On peut étudier également au photomètre la dispersion des valeurs de densité optique des hématies.

La méthode permet de distinguer la thalassémie dans laquelle la répartition de l'Hb F dans les hématies est hétérogène (type A de KLEIHAUER), de la persistance héréditaire de l'Hb foetale où elle est homogène (forme B de KLEIHAUER).

ooOoo

L'ELECTROPHORESE ET LES PROGRES DANS LA THALASSEMIE

Avant 1952, le diagnostic d'anémie de COOLEY ou de syndrome hémopathique méditerranéen n'était porté que sur des critères cliniques et hématologiques.

Aussi différents auteurs avaient bien des difficultés à interpréter les faits observés, en raison de multiples formes d'expressivité du gène, aussi bien à l'état hétérozygote, qu'à l'état homozygote, comme on le sait, maintenant.

L'apparition de l'électrophorèse et son application aux études de l'hémoglobine a marqué un progrès immense, en ce qui concerne les problèmes diagnostiques des hémoglobinopathies.

C'est l'électrophorèse qui a apporté les renseignements principaux nécessaires pour compléter les données cliniques et hématologiques de cette maladie.

Cette utilisation des méthodes électriques avaient été sûrement présentée par GEIGER, qui utilisait en 1931 la cataphorèse pour l'étude de l'hémoglobine et distinguait deux fractions.

C'est grâce à l'électrophorèse que PAULING a découvert l'hémoglobine S, et qu'est née la notion de maladie moléculaire.

Le principe sur lequel l'électrophorèse se fonde est bien connu.

Les protéines comme les acides aminés sont des polyions, où sont compris des groupes qui se dissocient en NH_3^+ , à un pH inférieur au pH_i de la protéine en CO^- , à un pH supérieur au pH_i . Selon le pH du milieu où elle se trouve (tampon), elle se mobilise vers une des électrodes, avec une vitesse qui dépend de son poids moléculaire et de sa charge électrique.

Deux protéines se séparent d'autant mieux que le pH du milieu est situé entre leurs pH isoélectriques, puisqu'elles migrent, alors, vers des électrodes opposés.

Cela explique, que lorsque l'on est en présence de plusieurs protéines de pH différents, le pH du milieu permet de séparer nettement et seulement quelques unes.

D'où l'intérêt dans la séparation des différentes fractions hémoglobines, de refaire des électrophorèses successives à des pH différents, et, en modifiant les conditions de température et de force ionique.

L'électrophorèse en phase libre ou en veine liquide

Ce n'est qu'en 1938 qu'apparaît l'électrophorèse en phase libre de TISELIUS.

C'est avec ce moyen que les premiers chercheurs, étudiant des hémoglobinopathies, ont dosé les différentes fractions hémoglobiniques.

Jusqu'en 1953, où apparaît l'électrophorèse sur papier cette méthode de TISELIUS resta malheureusement la seule utilisée par les auteurs ayant étudié "les syndromes thalassémiques".

Il faut noter qu'elle était coûteuse, et s'adaptait mal à la routine du laboratoire clinique. Par contre, elle était assez précise et le dosage des différentes portions se faisait par planimétrie.

On mit en évidence à l'électrophorèse en phase libre à partir de 1945, des petits composants hémoglobiniques, l'un à mobilité anodique supé-

rieure à la fraction hémoglobinique principale : "composants a" et les autres "composants b" à mobilité inférieure à celle de la fraction principale en milieu alcalin, tous deux incolores.

L'électrophorèse de TISELIUS ne permettait pas le dosage quantitatif de ces petits composants, car ils apparaissaient sous forme d'un "épaulement" du pic principal empêchant le calcul planimétrique. Elle ne permettait pas, non plus d'avoir une connaissance satisfaisante de leur nature.

L'électrophorèse sur papier

Ce n'est qu'en 1953 qu'apparaît l'électrophorèse de zones sur papier (SPAET 1953, SMITH et CONLEY 1953, LARSON et RAMEY 1953, MOTULSKY et PAUL 1954, POLOSA et LOTTA 1957).

Elle a des avantages incontestables : elle est d'une extrême simplicité, elle est rapide et elle nécessite une moindre quantité de matériel à étudier. Elle permet l'appréciation semi-quantitative des différentes fractions.

Par contre, elle a des inconvénients : elle ne permet pas l'étude de la mobilité de chaque composant électrophorétiquement distinguable. En effet, le papier utilisé comme support absorbe les composés, sa texture est plus ou moins régulière et malgré l'utilisation d'une plaque de verre de soutien, les frontières des composants sont mal délimitées. Elle ne donne, donc, pas de bandes nettes et elle laisse persister derrière les taches, des traînées qui sont gênantes pour la distinction des différentes fractions.

Ainsi, l'Hb F se manifeste par une accentuation de la traînée de la tache principale. L'électrophorèse sur papier ne complète que faiblement, en ce qui concerne l'Hb F, les résultats de la méthode de dénaturation alcaline.

En clinique courante l'électrophorèse sur papier est encore la méthode la plus utilisée.

SILVESTRONI et BIANCO, en 1957, ont utilisé la coloration spécifique de l'hème par la benzidine et par la coloration générique des protéines au bleu de bromophénol.

En opérant à pH alcalin, ils ont mis en évidence, avec la coloration au bleu de bromophénol, deux fractions douées d'une mobilité électrophorétique, inférieure à la fraction principale et une petite fraction douée d'une mobilité supérieure, et, retrouvèrent, par conséquent, les composants mineurs ci-dessus cités.

Par contre, en soumettant les bandes à la coloration par la benzidine, ils n'observaient qu'une seule des "composantes lentes" qui ne se colorait pas.

Par cette méthode, ils mettaient donc, en évidence, l'existence de fractions mineures non hémoglobiniques, qui avaient tant intrigué les auteurs qui se sont penchés sur les hémoglobinopathies.

Mais l'électrophorèse sur papier ne peut en faire un dosage quantitatif.

L'électrophorèse sur papier avec un tampon barbital pH 8 est une méthode de routine qui permet l'estimation de l'Hb A₂.

La technique de SMITH et CONLEY en 1953, utilisant un tampon phosphate à pH 6,5, permet la séparation de Hb H et de Hb Bart's (LEEMANN et AGER 1960).

En conclusion, les résultats sont surtout qualitatifs.

Electrophorèse sur amidon

En 1955, KUNKEL et WALLENIS ont utilisé les premiers l'amidon comme moyen de support dans la séparation électrophorétique d'hémolysat de sang humain, et ont découvert et dosé ainsi l'Hb A₂. Ils ont attiré l'attention sur les variations quantitatives de cette fraction mineure chez les thalassémiques.

Ces faits ont été confirmés par différents auteurs (CEPPILLINI 1956, BERNASCONI 1956, MARINONE 1957).

Electrophorèse sur gel d'amidon

On peut séparer différentes hémoglobiniques par cette méthode, par l'électrophorèse sur gel d'amidon.

a - Au moyen du tampon tris-citrate-borate pH 8,5, elle permet de séparer les composants de migration lente Hb F (PONLEK 1959).

b - Avec un tampon phosphate pH 7, elle détermine les composés minimes de migrations anodiques telles que Hb H, et Hb Bart's (GAMMAK 1960).

Depuis 1963, le tampon tris EDTA borate pH 9 est utilisé systématiquement pour séparer les composés de migrations rapides.

c - A pH 1,9 elle permet de séparer des chaînes α et β .

Les colorants utilisés sont l'amidon noir et la benzidine colorant l'hème avec H_2O_2 ou le bleu de bromophénol colorant générique des protéines.

L'élution n'est pas commode dans cette méthode. Elle consiste à découper le gel en tranches, et à utiliser, ensuite, soit l'action d'une amylase, soit le passage par migration de l'Hb contenue dans la tranche de gel, dans un bloc d'amidon.

Electrophorèse sur bloc d'amidon

Comme la précédente, elle permet le dosage quantitatif précis des différentes fractions ; il n'y a pas de phénomène de traînées ; l'évaluation de la fraction Hb A₂ est précise et de même pour la fraction Hb F.

Utilisant le tampon barbital ou véronal pH 8,6, elle permet la réalisation de l'électrophorèse, à la fin de laquelle, les composants sont vi-

sibles à l'oeil, par leur opalescence. Le bloc est découpé et l'élution se fait au moyen du même tampon.

Cette méthode là met en évidence des quantités très faibles de constituants, en permet la séparation et le dosage précis.

En effet, ce support ne présente pas la propriété absorbante pour l'Hb et il n'y a pas de trainées.

Avec un tampon phosphate pH 7, elle permet l'obtention des Hb Bart's et H.

L'électrophorèse en gel agar (HARDER et CONLEY 1959)

Elle est techniquement plus rapide ; en effet, elle demande trois heures, alors que les méthodes précédentes demandent parfois plus de 15 heures.

Avec un tampon citrate pH 9, la séparation de l'Hb F et de l'Hb A est bien meilleure ; de plus, elle permet de distinguer Hb S et Hb C de Hb D.

En conclusion, ces méthodes utilisant l'amidon comme support, ont apporté une simplification extrême des problèmes diagnostiques de la thalassémie.

D'une manière générale, outre la mise en évidence des différentes fractions de l'hémoglobine, elles ont permis le dosage quantitatif de ces fractions.

A la méthode plus ancienne de dénaturation alcaline pour doser l'Hb F s'ajoutent maintenant les méthodes de dosage électrophorétiques sur amidon.

La généralisation de leur emploi permet de porter d'une manière plus précise, le diagnostic de l'état homozygote ou de l'état hétérozygote du gène, même si la symptomatologie est trompeuse, lequel est plus aisé par l'usage de ces techniques dans les enquêtes familiales.

En outre, elles permettent le dosage et la caractérisation des composants mineurs.

Avant l'apparition de ces méthodes, on arrivait à démontrer l'hétérogénéité de l'hémoglobine par différentes méthodes :

- Méthode de solubilité de ROCHE et DERRIEN en 1953, caractérisant l'hémoglobine foetale et l'hémoglobine adulte.
- Chromatographie sur colonne d'alumine de ATSCHUL (1939) séparant deux formes de l'hémoglobine sans que leur signification réciproque fut établie.
- Séparation chromatographique sur papier d'une hémoglobine de lapin, marquée au fer 59, montrant l'existence de deux fractions d'activité spécifique différente (SCHAPIRA et DREYFUS 1951 à 1953).

L'électrophorèse sur citrate de cellulose
proposée par PETRAKIS, DOHERTY, GRUMBAUM 1962.

L'électrophorèse sur polyacrylamide sont des méthodes plus modernes.

PERSPECTIVES ACTUELLES

I - Sur le plan expérimental

A) - L'étude des séquences nécessite plusieurs étapes :

1 - La séparation de l'hémoglobine étudiée par l'électrophorèse, dont on connaît mieux les conditions expérimentales. Grâce à l'utilisation de tampons et de pH différents, de l'acrylamide comme support du "Disc électrophorésis" plus résolutif que de l'électrophorèse sur bloc d'amidon, on peut espérer des progrès dans cette voie.

2 - La séparation de la chaîne que l'on veut étudier et que l'on sait mieux faire, grâce :

a - à l'utilisation d'acide parachloro-mercuribenzoïque qui bloquent les fonctions -SH permettant mieux la rupture des liaisons inter-chaînes, chaînes que l'électrophorèse, en tampon formiate à pH 1,9, va séparer.

b - aux méthodes à contre courant permettent de séparer directement les deux chaînes.

c - A la chromatographie sur Amberlito IRC 50, en gradient d'urée concentrée, permettant bien cette séparation.

d - A la précipitation élective à l'acide trichloracétique.

e - A la chromatographie sur gel d'amidon en présence d'agent dissociant (dodicylsulfate).

- A la technique d'hybridation d'hémoglobines, elle est aussi utilisée du point de vue pratique pour déceler une chaîne anormale. Lorsque l'on mélange de l'hémoglobine humaine et de l'hémoglobine de chien, nous obtenons quatre variétés d'Hb, dont deux sont des hybrides, entre les chaînes α humaines et β de chien et inversement.

Une simple électrophorèse suffit, en nous montrant le changement de position d'une fraction hybride, de faire le diagnostic de la chaîne anormale.

3 - L'étude de la chaîne en question par le "finger-sprint" qui nous donne différents peptides.

Mais on sait encore que deux peptides différents peuvent occuper la même place sur le "finger-print".

L'étude de la séquence d'un peptide est encore extrêmement difficile. Jusqu'à présent on se contentait, dans le cas des hémoglobinoses de voir si, dans le peptide anormal trouvé au "finger-print", l'hydrolyse totale de ce dernier et identification des acides aminés (sur colonne échangeuse d'ions par une technique automatique) montrant la substitution d'un acide aminé par un autre. Mais, dans un grand peptide où il existe plusieurs mêmes acides aminés, cette identification d'une mutation devient impossible.

D'autre part, l'hydrolyse laisse un résidu d' $1/3$ de la molécule intacte, appelé "le core", et l'on sait, très récemment, que les mutations pourraient siéger au niveau du "core".

La technique d'amino-éthylation permettra bientôt d'attaquer ce résidu, de même l'utilisation d'enzymes végétales mérite d'être étudiée.

On sait que HUNT et INGRAM ont réalisé en 1959, le "finger-print" de l'hydrolysate chymotrypsique du "core trypsine" résistant de l'Hb A et de l'Hb S.

En conclusion, seule l'étude des séquences de l'hémoglobine de thalassémie permettra un jour de savoir, ce qui se passe au niveau moléculaire.

B) - La preuve d'un bloc de synthèse de la globine dans la thalassémie ne peut être apportée que par une étude "in-vitro" du genre de celle effectuée par DINTZIS, sur les réticulocytes et qui tenterait de mettre en évidence l'accumulation des chaînes polypeptidiques incomplètement inachevées au niveau du ribosome.

II - Sur le plan clinique

Des sondages nombreux, dans des régions, où la fréquence thalassémique est importante, comportant des électrophorèses sur gel d'amidon à pH 7 et à pH 9, permettront de progresser dans la génétique de la Thalassémie, en raison des brassages de peuples.

a - Des enquêtes génétiques dans les familles où il existe des cas de double hétérozygotisme α thalassémique et une mutation du gène δ (hémoglobine A $\frac{1}{2}$) permettra de préciser les rapports du "site" anormal de la α thalassémie et du gène δ .

b - Des anomalies de la chaîne γ , recherchées dans les familles où il existe une α thalassémie, que l'on peut mieux dépister par électrophorèse de sang de cordon, nous renseignera sur la position relative du "site muté" de la α thalassémie et du gène γ .

OBSERVATIONS PERSONNELLES

Cas et diagnostics probables	Observations cliniques	Observations hématologiques	Résultats Biochimiques	Diagnostiques envisagés au départ	Observations particulières,	Enquête familiale et Conclusion
n° 1 sujet Italien 8 mois Thalassémie Homozygote	Pâleur importante, Diarrhées, Vomissements, Ondes fébriles (plusieurs hospitalisations) crises convulsives généralisées sans antécédents. Deux crises dont une de cinq minutes, Etat d'agitation et hyper-tonie EEG transitoirement perturbée Splénomégalie importante Hépatomégalie	G. R. : 4,00 M, Hb = 9,2 Vg = 0,75 TGMH = 23 μ Y Plasmocytose 1 % Erythroblastose 6 % Anisocytose et Anisochromie, G. B. = 12,900 Vol. Glob. 70 μ 3 Moelle : Erythroblaste 75 %	HbA ² augmentée HbF = 80 % Résistance osmotique augmentée Initiale 3' /... totale 1,5' /... Fer sérique 213 γ Bilirubine directe : 0 - indirecte : 16 mg Stéatorrhée	Septicémie Ménigite Hématome sous-dural Tétanie	Hémoculture négative, PL normale Périmètre crânien inchangé Calcium normal Epreuve de VIT. C normale	Père : HbA ² augmentée HbF 2,1 % G. R. 5,3 M TGMH 22,3 Vol. Glob. 76 μ 3 Mère HbA ² augmentée HbF 0,8 % G. R. = 5,9 M, TGMH 20,2 Paludisme, grosse rate Frère : 11 ans HbA ² augmentée HbF 1,5 % (hétérozygote) GR 4,1 M, TGMH 22,5 Sœur : 9 ans HbA ² augmentée G. R. 5,2 M TGMH 22,7 Sœur : 10 ans - hospitalisée en Italie sans diagnostic. Grosse rate, Gros foie, Anémie forte érythroblastose médullaire et sanguine 90 %. Anisopoikilocytose, G. R. 2,6 M, VG = 0,39 G. B. = 13,000
n° 2 sujet Algérien 3 ans Thalassémie Hétérozygote	Pâleur - Subictère	G. R. = 4,4 M, Hb = 8 g. V. G. = 0,6 TGMH = 20 μ Y Anisocytose hypochromie, Hématies ponctuées, G. B. = 6,400	Bilirubine indirecte 5 mg B. directe : 0. Résistance osmotique augmentée. Début 4' /... Totale 1,5' /... HbA ² augmentée HbF 2,4 % Fer : 100 γ Porphyrine globulaire 0,060 mg / 100 ml (N : 0,020 à 0,060) Urinaires, Acide delta amino bilirubinique = 1 mg/l = N = 0 à 2 Phorphobilinogène = 1 mg/l, Uroporphyrine néant, Coproporphyrine 0,043 mg/l	Intoxication au plomb Plombémie normale : 10 γ / 100 g		Père : HbA ² augmentée HbF 1,4 % Mère : HbA ² normale
n° 3 sujet Algérien 8 ans Thalassémie Hétérozygote	Douleurs abdominales et diarrhées. Les premières fréquentes, diurnes et nocturnes, depuis un an. Micropolynéopathies, Rétention de deux travers de doigt. Radio du crâne, montre un peu mince. Caractérisation quelques jours après hospitalisation de signes biologiques d'hépatite virale; corticothérapie entreprise alors. Hyperagitation. Evolution grave de l'hépatite virale ayant entraîné la mort en 35 jours dans un coma hépatique.	G. R. : 3,2 M Hb = 6,8 Vg = 0,7 TGMH 21 μ Y Anisocytose, G. B. = 6,500 Moelle : total des érythroblastes : 39 %	Bilirubine : Indirecte : 30 mg Directe : 0 HbA ² augmentée HbF 0,5 % Fer sérique 100 γ Tous autres signes biologiques d'hépatite virale aggravée	Troubles de l'absorption de l'amidon intact à 80 %. Coefficient d'assimilation des graisses : 82 % N = >95 % Signes radio de colite du transverse. Anapath du foie "cirrhotique organisée due à une hépatite ancienne	Troubles de l'absorption de l'amidon intact à 80 %. Coefficient d'assimilation des graisses : 82 % N = >95 % Signes radio de colite du transverse. Anapath du foie "cirrhotique organisée due à une hépatite ancienne	Père : HbA ² normale, HbF = 0,5 % Mère : HbA ² élevée, Hb : 7,1 g. GR = 4,07 M VG = 0,55 forte anisocytose et anisochromie. Signes : GR : 4,3 %. Hb : 12,9 g, VG = 0,9 Sœur : GR = 4,5 M Hb : 12,2 g, VG : 0,9 Sœur : GR = 3,8 M Hb : 6,4 g. VG : 0,5 Erythroblastes 3 %, forte anisocytose et anisochromie Frère : GR : 3,5 M, Hb : 12,7 g VG : 1,1 Frère : GR : 4,8 M Hb : 15,2 g

n° 5 Enfant de 1 an, Noir Congolais	Pléur chétivité. Manifestation comitales, absence (enfant immobile, yeux réveillés). Petit souffle systolique endopexien. Altération des fonctions rénales Concentration maximum 1015. PSP : 35 % à 70 min. Clearance à la créatinine : 90 ml, traité par DIAMOX Rate et foie normaux. Microcytopénopathies. Crise aplasique pendant hospitalisation à 2,2 M, GR avec ERYTHROBLASTES 25% MYELOCYTES : 1 % Pas de médullogramme.	En crise aplasique, chute des GR à 2,2 M avec RETICULOCYTES 0 ERYTHROBLASTES 25% MYELOCYTES : 1 % Pas de médullogramme.	Fer sérique 85 μ /100ml	Pas d'anticorps à l'examen immunohématologique Soeur : Thalasémie hétérozygote. Soeur : normale Soeur : normale Les cinq sujets thalassémiques de cette famille, présentent une hypochromie, des anomalies morphologiques globulaires. Une augmentation de la résistance osmomotique et une augmentation d'HbA₂	Mère : drépanocytose hétérozygote, Hb S : 32 % Frère : Thalasémie hétérozygote.	condes, VS accélérés en temps ordinaire à 11 - 25 - 35 - 77	Les deux parents sont hétérozygotes, ils ont quatre autres enfants indemnes et une grossesse en cours.	Parents hétérozygotes.
n° 6 enfant de 1 an Cameroonais Drépanocytose Homozygote	Hospitalisé à 1 an pour ic-tère conjonctival, splénomégalie, un travers de doigts Polyadénopathies. Poussées fébriles de quelques jours entre 38° et 39° avec la déglucobulisation ci contre : En une semaine disparition de la fièvre et remonte globulaire à GR : 4,00 M Reçu à 1 an 1/2, pleurésie séro purulente à staphylocoques et foyers parenchymateux. La rate a augmenté de 2 cm après la dernière hospitalisation. Traitement DIAMOX et transfusions de culots globulaires	Numération en poussée : GR : 2,1 M Hb : 5 g Anisocytose Anisochromie Microcytose 90 % de drépanocytes Après 2 h, sur lame : G.R : 3,5 M B.B. : 12,000 Lympho : 40 % Importante déglucobulisation à 2,3 M-GR VG : 0,07 Erythroblastose sanguine : 31 % Hématies en bracelet.	Fer sérique : 130 μ Hb F = 35 % absence totale d'HbA et HbA₂ HbF : 35 % HbA et HbA₂ absentes	Les deux parents sont hétérozygotes, ils ont quatre autres enfants indemnes et une grossesse en cours.	Parents hétérozygotes.	Déglobulisation à 2,00 M, de GR avec réticulocytes : 10% Hb : 6 g. Anisocytose, Drépanocytes dont le pourcentage augmente par action du métabolisme de soude à 2 %	Fer sérique : 138 μ HbF = 11 %	Parents hétérozygotes.

OBSERVATIONS PERSONNELLES

Au cours d'un stage effectué dans un service pédiatrique de banlieue parisienne, nous avons pu recueillir quelques observations concernant quatre malades atteints de Thalassémie.

Cela nous a amené, initialement à nous intéresser à cette maladie aux aspects si polymorphes, et pour laquelle s'acharnent encore les travaux scientifiques les plus modernes.

Nous avons pensé utile de présenter, ici, sous la forme du tableau ci-dessus, le détail de chacun des cas étudiés.

L'examen de ce tableau permet de tirer facilement quelques conclusions, soit sur le plan pratique (diagnostic), soit sur le plan théorique.

CAS N° I S... Jean-François

a - Sur le plan clinique on observe :

des troubles digestifs importants avec stéatorrhée, l'atteinte de l'état général avec une température qui oscille entre 38 et 39°. La très grosse splénomégalie.

Sur le plan hématologique, outre l'anémie hypochrome et les anomalies morphologiques globulaires signalées, c'est la forte réaction érythroblastique médullaire qui retient l'attention.

Sur le plan biologique, on remarquera l'augmentation de la résistance osmotique globulaire, l'hémolyse, l'hypersidérémie marquée, mais surtout le

taux d'Hb F très élevé 80 %, alors qu'à cet âge il aurait dû être au plus égal à 5 %.

Sur le plan génétique, on retrouve une hypochromie chez les deux parents, avec une augmentation de l'Hb A₂.

La présence d'antécédents de paludisme chez la mère est un fait qui illustre cette fréquence de thalassémie, dans les régions où sévit la malaria.

A l'origine de l'avantage sélectif du gène, on remarquera la thalassémie minime de la mère avec polyglobulie à 5,9 Millions.

Le cas de la soeur aînée hospitalisée en Italie a retenu notre attention. C'est le point le plus intéressant de cette observation.

En effet, le résumé de l'observation clinique du pédiatre italien, en Sardaigne, mentionnait une splénomégalie, une hépatomégalie ; à la numération on notait une anémie hypochrome avec anisopoikilocytose et érythroblastose. Le médullogramme confirmait une forte érythroblastose. Aucun dosage de fer, ni de fraction hémoglobinique n'était signalée, par conséquent, on en déduit qu'il s'agit probablement d'une thalassémie homozygote ignorée et ce, chez un enfant ayant 9 ans de plus que l'enfant étudié présentement.

Le retard important de diagnostic chez un enfant de cet âge en traitement hospitalier, ne peut s'expliquer que par le peu de vulgarisation et de connaissances de cette affection même dans les régions où sévit fortement ce gène.

b - Un autre aspect intéressant de cette observation est la composante neurologique majeure qui fait partie du syndrome clinique de l'enfant. Elle se composait d'hypertonie, de trémulations et d'agitation. Deux crises convulsives dont une assez longue sans perte de conscience se sont produites. L'électro-encéphalogramme s'est montré transitoirement perturbé.

De plus, aucun antécédent personnel ou familial étiologique n'a été retrouvé. Il est intéressant de remarquer que dans ce cas les signes neurologiques constituaient la composante dominante du tableau clinique.

MALLARME soulignait, en effet, la fréquence des perturbations électro-encéphalographiques.

c - Les caractéristiques de la mère méritent d'être signalés. Celle-ci possède un taux d'hématies de 5,9 millions et une valeur globulaire de 0,8 ; en résumé, il s'agit d'une polyglobulie hypochrome.

Cette femme cliniquement indemne est atteinte d'une forme minime de thalassémie. Le trait thalassémique est en effet caractérisé par les anomalies morphologiques globulaires, la teneur globulaire moyenne des hématies en hémoglobine basse est l'élévation du taux d'Hb A₂.

Nous pouvons ajouter que dans ces polyglobulies hypochromes thalassémiques, la normalité du taux du fer sérique est aussi un argument diagnostique valable.

CAS N° II Z... JAMEL

Sujet algérien de 3 ans présentant une thalassémie hétérozygote, ayant reçu le gène de son père.

Le point à remarquer est la présence d'hématies ponctuées dans le sang, qui a fait penser à une intoxication au plomb.

Mais la plombémie était normale.

Ces inclusions dans les globules rouges visibles sans préparation, nous rappellent celles que FESSAS observait dans les globules rouges des sujets thalassémiques splénectomisés, qui sont supposées actuellement être dus à l'hème inutilisé pour l'hémoglobinogénèse.

Le problème du saturnisme et de la thalassémie a d'ailleurs été soulevé par ROCHE, JEUNE d'une part et ALBAHARY d'autre part. ROCHE souligne l'identité des signes cliniques et hématologiques : hypochromie, anisocytose, cellules-cibles, hématies ponctuées. En fait le diagnostic est facile, car il n'y a jamais de modifications de la résistance globulaire ni d'anomalies électrophorétiques dans le saturnisme.

Nous connaissons les troubles du métabolisme de l'hème dans le saturnisme. Ces troubles associés aux hématies ponctuées présentent bien de points communs avec la thalassémie. Ne serait-il pas impossible que la pathogénie des hématies ponctuées leur soit commune ?

Chez notre malade, les résultats du dosage des porphyrines effectués pour éliminer une intoxication au plomb présentent un intérêt dans le cadre de la thalassémie. Nous y observons un porphobilinogène globulaire à la limite supérieure de la normale et l'acide d'amino-lévulinique urinique à la limite supérieure de la normale.

Ces données ne pourraient-elles pas être la preuve du trouble du métabolisme de l'hème dans la thalassémie et présenter un rapport avec les inclusions globulaires ici observées.

CAS N° III C... NOURREDINE

Algérien de 8 ans atteint de thalassémie hétérozygote.

Ce sujet présentait une anémie hypochrome avec anisocytose et Hb A₂ élevée. Dans la famille, la mère présentait une anémie hypochrome avec Hb A₂ élevée.

C'est au cours de l'hospitalisation de cet enfant qui présentait des douleurs abdominales paroxystiques et des diarrhées qu'une hépatite virale sans ictère est dépistée biologiquement.

Après mise sous corticothérapie le tableau clinique s'aggrave par l'apparition de signes neurologiques et perturbation croissante des fonctions hépatiques, qui finit par entraîner la mort en 35 jours par ictère aggravé.

L'anatomie pathologique montrait une cirrhose très organisée due à une hépatite ancienne.

On peut se demander dans cette observation, si la thalassémie n'avait pas eu un rôle aggravant dans l'évolution de cette hépatite après corticothérapie.

Cette hépatite virale s'est, sans doute, greffée sur un foie cirrhotique dont la thalassémie n'était probablement pas sans lien.

L'étude de cette famille montre également qu'une des deux soeurs est également porteuse du gène.

A l'occasion de cette étude, il est apparu que les renseignements concernant les dosages d'Hb A₂ et d'Hb F manquent de résultats quantitatifs et que, bien souvent encore, l'insuffisance de l'électrophorèse sur papier prédomine comme moyen d'investigation.

CAS N° IV - Thalasse-drépanocytose. S... Georges.

A - Sur le plan clinique cet enfant nord-africain présente une riche symptomatologie :

a - En effet, à l'âge de 3 ans, il avait présenté un accident respiratoire aigu.

Quinze jours avant son hospitalisation, il avait souffert d'une arthrite aiguë des deux coudes.

b - Pendant les premiers jours d'hospitalisation, il était fébrile (38° - 38°5), et on constatait des signes inflammatoires au niveau des coudes. Biologiquement, la preuve était faite d'une élévation de la vitesse de sédimentation et d'une hyperleucocytose à polynucléose, mais les taux normaux d'antistreptolysine et de fibrine permettaient d'éliminer un R.A.A. Le souffle systolique était sûrement dû à l'anémie. Il s'agissait vraisemblablement de microthromboses, à l'origine de l'épisode fluxionnaire articulaire, et effectivement tout s'était détendu en l'espace de quelques jours.

c - Une insuffisance rénale est objectivée aux épreuves de dilution-concentration, et à l'étude des clearances.

Cette insuffisance rénale est stable, comme le prouvent les mêmes épreuves, lors de la deuxième hospitalisation dix-huit mois après. Le taux d'urée n'avait jamais dépassé 0,40.

d - Il existe également une composante neurologique caractérisée par des "absences" pendant lesquelles l'enfant reste immobile, yeux révulsés, et qui se retrouve durant la deuxième hospitalisation.

L'E.E.G. est perturbé lors de chaque examen (tracé lent).

Psychiquement, on note un léger retard intellectuel sensible aux épreuves verbales.

e - L'hypertrophie de cet enfant est un caractère persistant. La rate s'est hypertrophiée depuis, car elle est devenue palpable à la deuxième hospitalisation.

f - Enfin radiologiquement l'hypertrophie de la corticale des os longs prouve un certain degré d'ostéosclérose.

B - Sur le plan hématologique, on note l'anémie hypochrome à 21% et la présence de quelques drépanocytoses. Une anisocytose, une anisochromie et des hématies ponctuées ont également été trouvées. Le test d'Emel fait apparaître des drépanocytes à 100 %.

Il est intéressant de remarquer le taux presque trompeur du fer sérique à 85 %, car l'anémie est hypochrome et hyposidérémique, au lieu d'être hypersidérémique.

La fréquence de ces anémies au cours de la thalassémie en général, mérite à ce sujet d'être signalée en passant.

Au cours de la première hospitalisation le sujet fait une crise aplasique caractéristique survenue spontanément. Elle est marquée par une chute globulaire à deux millions en quatre jours, avec élévation simultanée du taux des leucocytes et fièvre.

On remarque parallèlement la chute des réticulocytes du sang à zéro, et également des érythroblastes qui se trouvaient d'ailleurs à un taux anormalement élevé dans le sang. Ces données confirment la poussée aplasique.

Grâce au culot globulaire transfusé, on obtenait une remontée globulaire et une chute des leucocytes, sans apparition de réticulocytes.

G.H.
- G.B.
- réticulocytes

Poussée aplasique dans le cas n° 4

50.000

G.R.

4 Millions

40.000

42
3 M %
20000 55

10.000

2 M.
0
0

Erythroblastes 25 %

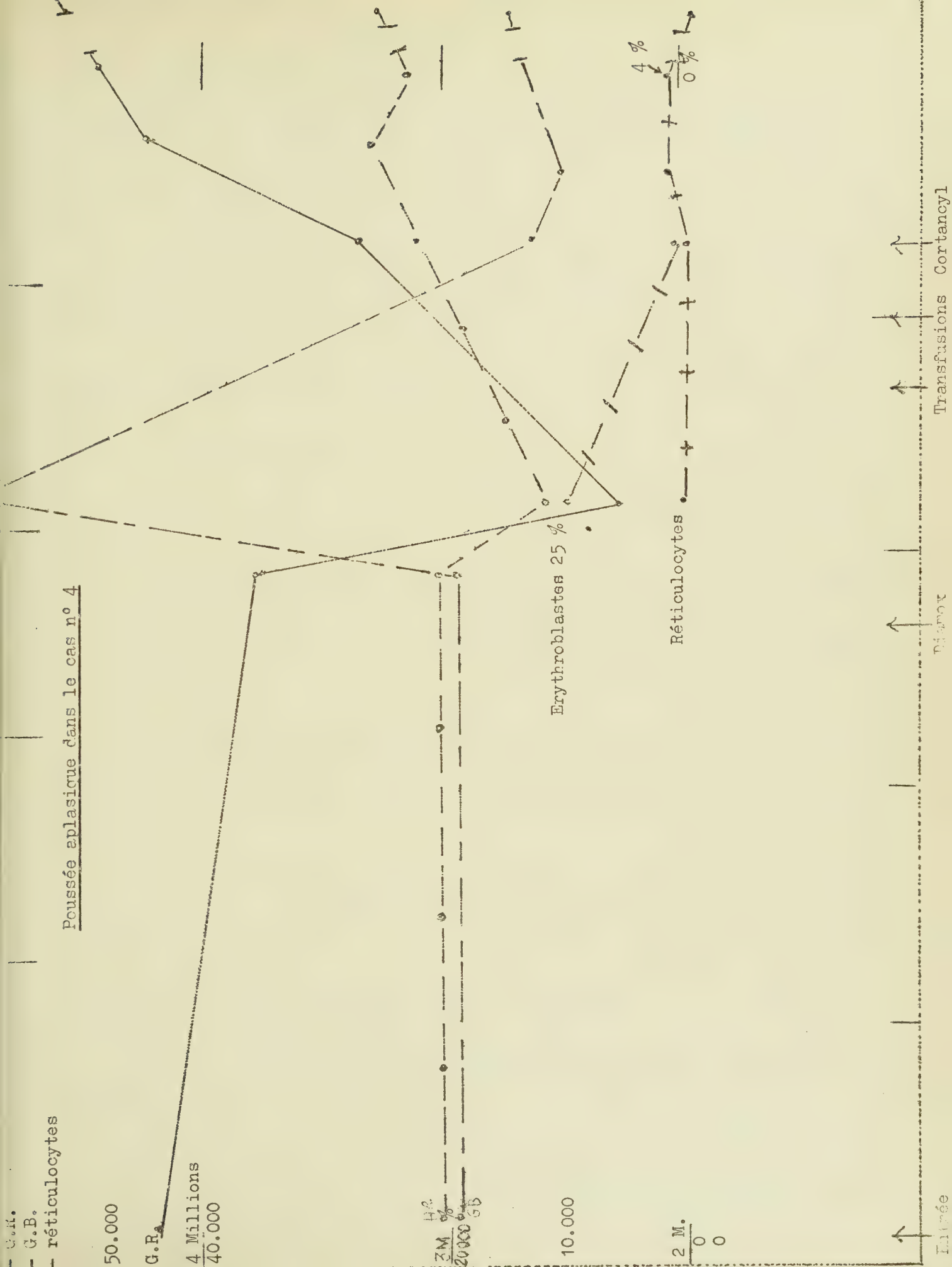
Réticulocytes

4 %
0 %

Entrée

Départ

Transfusions Cortancyl



Puis, après administration de cortancyl, l'ascension globulaire s'accroît, et les réticulocytes réapparaissent quelques jours après à un taux de 4 %.

C - Etude de l'hémoglobine

L'électrophorèse montrait une absence totale d'Hb A, 87 % d'Hb S et 13 % d'Hb F. Il s'agissait d'une forme "sans production d'Hb A" et nous constatons la gravité du tableau clinique.

Nous avons déjà vu, en effet, que la gravité du Tableau clinique, serait liée à la carence en Hb A.

D - Enquête génétique

Sur le plan génétique, le sujet recevait le gène thalassémique par son père.

Celui-ci présentait un taux d'Hb A₂ élevé, et un taux d'Hb F normal.

La comparaison avec les taux du jeune malade frappe, par l'élévation de l'Hb F. Tout se passe donc, comme si l'Hb S produite ne puisse pas réprimer le gène γ .

Par ailleurs, le malade recevait de sa mère le gène drépanocytaire. Celle-ci avait un taux d'Hb S de 32 %. La comparaison de ce dernier taux, avec celui de cet enfant nous montre l'interaction du gène S et du gène thalassémique.

La répression de la synthèse des chaînes α porterait davantage sur le gène porteur du caractère thalassémique, que sur le gène porteur du caractère S.

CAS N° V - Drépanocytose hétérozygote. F... Yollande

Nous croyons utile de le présenter, à titre indicatif, bien qu'il ne concerne pas la thalassémie.

On remarque la poussée aplasique avec déglobulisation, régressive ensuite.

Une complication pleuro-pulmonaire infectieuse grave à staphylocoques.

L'hypertrophie progressive de la rate.

Les taux d'hémoglobine révèlent une absence totale d'Hb A et 35 % d'Hb F, alors qu'à cet âge (un an) le taux d'Hb F devrait être inférieur à 5 %.

Nous retrouvons l'absence de répression des gènes γ par les gènes β anormaux.

Génétiquement, les deux parents sont hétérozygotes. Au lieu d'avoir comme on s'y attendrait 50 % d'enfants hétérozygotes, ils possèdent, par chance sur cinq enfants quatre enfants normaux.

La grossesse en cours laisse penser à l'ignorance dans laquelle se trouvait cette famille susceptible d'engendrer des homozygotes.

CAS N° VI - Drépanocytose homozygote. K... ANICET

On remarque que cet enfant avait reçu au Cameroun, des transfusions pour anémie.

La famille était venue avec l'enfant en avion à Paris, alors, que ce mode de transport est contre indiqué, surtout lorsque l'avion n'est pas pressurisé.

CONCLUSIONS

La Thalassémie désigne pour l'instant un trouble génétique de la synthèse de l'hémoglobine, en l'absence d'anomalies structurales caractérisées du composant principal de l'hémoglobine.

Elle recouvre plusieurs entités :

La Béta thalassémie, la plus fréquente est d'un polymorphisme extrême. Certes, la forme majeure "saute aux yeux" du clinicien dans la plupart des cas, mais les formes hétérozygotes, mineures, et minimes demandent beaucoup plus de soin pour en établir le diagnostic.

Dans certaines contrées, où sévit le gène thalassémique à des taux élevés le diagnostic n'est pas encore toujours fait en raison des difficultés qu'y rencontre la Médecine.

L'hérédité dans la Béta thalassémie des formes "avec Hb A₂ élevée" et "avec Hb A₂ normale" semble actuellement établie.

Les associations de la Béta thalassémie et d'une hémoglobinoase Béta, nous donne des taux d'hémoglobine anormale, supérieurs à ceux de l'hémoglobine adulte, à l'inverse de ce que l'on observe chez les simples hétérozygotes d'une hémoglobinoase Béta. Ainsi est réalisée, ce que les auteurs appellent "l'interacting thalassémie" qui traduit l'allélisme des deux gènes associés.

Cette association a permis aussi de définir deux formes par lesquelles s'exprime le gène thalassémique : "avec et sans production d'Hb A".

L'étude comparative de la persistance héréditaire de l'hémoglobine foetale et de la bêta thalassémie, nous a montré comment le premier gène entraînait la répression importante des chaînes Bêta et delta, pratiquement sans signes cliniques ni hématologiques. De plus, cette étude a mis en évidence la valeur du test d'élution acide des hématies, montrant la répartition hétérogène de l'hémoglobine foetale caractéristique de la bêta thalassémie en opposition, avec la répartition homogène observée dans la persistance héréditaire de l'hémoglobine foetale.

L'hémoglobine LEPORE nous a fourni l'exemple d'un gène qui se comportait comme le gène thalassémique, avec des taux d'Hb F élevés, mais les données scientifiques modernes nous ont montré l'altération de structure génétique qui l'affectait.

De toutes les observations relatées, nous avons déduit :

a - l'hétérogénéité des différents gènes thalassémiques capables d'expressivités différentes.

On a vu cette femme thalassémique homozygote ayant donné naissance à quatorze enfants

b - l'importance des facteurs environnants dans la détermination des taux des différentes fractions hémoglobiniques.

c - l'intérêt de généraliser les méthodes électrophorétiques quantitatives (sur amidon), et de celui non moins nécessaire de l'enquête génétique approfondie.

d - la nécessité dans les cas ambigus de vérifier la paternité par l'étude des groupes sanguins.

e - l'utilité de rechercher la répartition de l'hémoglobine foetale dans les hématies, même si le dosage par la dénaturation alcaline est normal.

f - que l'hémoglobine foetale n'est pas un facteur péjoratif, mais souvent, bénéfique au contraire.

Les données de la bêta thalassémie et de ses associations se sont retrouvées d'une manière semblable dans une nouvelle entité, l'alpha thalassémie et ses associations.

Plus difficilement dépistable l'alpha thalassémie hétérozygote se traduit par un syndrome thalassémique atténué.

Les formes homozygotes de l'alpha thalassémie sont, on le sait, létales "in-utero".

Des associations du gène alpha thalassémique, avec une hémoglobino-
se bêta, ont été décrites permettant aux auteurs de définir la "non interacting
thalassémie" où le taux d'hémoglobine anormale est inférieur à celui de l'hé-
moglobine normale, traduisant le non allélisme des deux gènes.

Lorsque le gène alpha thalassémique est associé à une hémoglobino-
se alpha, nous retrouvons "l'interacting thalassémie", où le taux d'hémoglobine
anormale est supérieur au taux d'hémoglobine A.

La fréquence du gène alpha thalassémique serait mieux connue, et les
diagnostics mieux établis si l'on pratiquait les techniques modernes d'élec-
trophorèse sur amidon à pH 7 et 8,5, chez l'adulte et chez le nourrisson,
dans les familles atteintes, de manière à rechercher des traces d'hémoglobine
Bart's et H.

Il en est de même pour la coloration au bleu crésyl brillant des hé-
maties.

L'étude de l'hémoglobinopathie H nous a aussi confirmé le polymor-
phisme du gène thalassémique.

L'apport des nouvelles techniques dans la recherche comme l'attestent
les expériences de BURKA et MARKS, nous a fourni la preuve concrète de l'in-
suffisance de synthèse des chaînes commandées par le gène thalassémique et
l'hypothèse plus probable d'un trouble secondaire de la synthèse de l'Hème.

De nombreux modèles moléculaires simples ont été proposés pour ren-
dre compte des diverses formes de Thalassémie, mais aucun d'entre eux ne
peut supporter le polymorphisme de la maladie.

Néanmoins ils ouvrent une large voie à l'investigation scientifique.

Quant aux perspectives thérapeutiques elles doivent tenir compte surtout de l'hémochromatose, qui occupe une place importante dans la gravité du pronostic des formes homozygotes.

Les nouveaux chélateurs pallieront peut-être un jour les risques transfusionnels.

ooOoo

Vu, le Président de Thèse :
Professeur Jean BERNARD

Vu, le Doyen de la Faculté :
Professeur G. BROUET

Vu et permis d'imprimer
Le Recteur de l'Académie de Paris :

J. ROCHE

BIBLIOGRAPHIE

HISTOIRE CLINIQUE DE LA THALASSEMIE

COOLEY T.B. and LEE P. (1925)

A series of cases of splenomegaly in children with anemia and peculiar bone changes.

Trans. Amer. Pediat. Soc. 37 - 29.

COOLEY T.B. (1927)

Von Jacksch's anemia.

Amer J. Dis child 33, 786.

COOLEY T.B., WITWER E.R., and LEE P. (1927)

Anemia in children with splenomegaly and peculiar changes in bones ; report of cases.

Amer J. Dis. child 34, 347.

MONCRIEFF A. and WHITBY L.H. (1934)

Cooley's anaemia.

Lancet 2, 648.

MICHELI F., PENATI F. and MOMIGLIANO L.G. (1935)

Ulteriori ricerche sulla anemia ipocromica splenomegalica con poichilocitosi.

Atti. Soc. It. di Emat. Haematologica 16 Suppl 10.

WHIPPLE G.H. and BRADFORD W.L. (1936)

Mediterranean disease-Thalassemia (erythroblastic anemia of Cooley).

J. Pediat. 9, 279.

DAMASHEK W. (1943)

Familial Mediterranean target-oval cell syndromes.

Amer. J. Med. Sci. 205, 643.

SILVESTRONI E. and BIANCO I. (1943)

Prime osservazioni di resistenze globulari aumentate in soggetti sani e rapporto fra questi soggetti e i malati di cosiddetto ittero emolitico con resistenze globulari aumentate.
Boll. Accad. Med. Roma 69, 293.

VALENTINE W.N. and NEEL J.V. (1944)

Hematologic and genetic transmission of thalassemia.
Arch. Int. Med. 74, 185.

SILVESTRONI E. and BIANCO I. (1946)

Una particolare anomalia ematologica : "La microcitemia".
Min. Med. (Torino) 37, 206.

SILVESTRONI E. and BIANCO (1947)

Sulla frequenza dei portatori di malati di morbo di COOLEY e prime osservazioni sulla frequenza dei portatori di microcitemia ne Ferrarese e in alcune regioni limitrofe.
Boll. Accad. Med. Roma 72, 32.

VECHIO F. (1948)

Sulla resistenza dell'emoglobina alla denaturazione alcalina negli ammalati di anemia di COOLEY e nei loro familiari.
Prog. Med. (Napoli) 4, 201.

ASTALDI G., TOLENTINO P. and SACCHETTI C. (1951)

La talassemia (Morbo di COOLEY e forme affini).
Biblioteca "Haematologica" XII, Pavia, Tipografia del libro.

ETTINGER E.

Thalassémie majeure.
Wien. Klin. Wochenschr., 1953, t. 65, p. 989.

ASTALDI G., RONDANELLI E.G., BERNARDELLI E. and STROSSELLI E. (1954)

An abnormal substance present in the erythroblasts of thalassemia major. Cytochemical investigation.
Acta Haemat. (Bassel) 12, 145.

ELLIS J.T., SCHULMAN I. and SMITH C.H. (1954)

Generalised siderosis with fibrosis of liver and pancreas in COOLEY's (Mediterranean) anemia.
Amer J. Path. 30, 287.

GATTO I., TERRANA V. and BIONDI L. (1954)

Compressione sul midollo spinale da proliferazione di midollo osseo nello spazio epidurale in soggetti affetto da malattia di COOLEY splenectomizzato. Haematologica 38, 61.

SMITH C.H., SCHULMAN I., ANDO R.E. and STERN G. (1955)

Studies in Mediterranean (COOLEY's) anemia II. The suppression of hematopoiesis by transfusions.
Blood 10, 707.

REEMSTA K. and ELLIOT R.H.E. (1956)

Splenectomy in Mediterranean anemia : an evaluation of long term results.
Ann. Surg. 144, 999.

BERNARD Jean.

Thalassémie.
Maladie du sang, 1958.
Paris, Flammarion Edit., pp. 543.

JANDL J.H. and GREENBERG M.S. (1959)

Bone marrow failure due to relative nutritional deficiency in Cooley's hemolytic anemia.
New England J. Med. 266, 461.

LEHMANN H. (1959)

The maintenance of the haemoglobinopathies at high frequency. Abnormal haemoglobins.
A Symposium (Ed. Jonxis T.J.M. and Delafresnaye J.F.) p. 307
Blackwell. Scientific publications L.T.D. Oxford.

WIEN., KLIN., WOCHENSCHR (1959)

T. 65, p. 989.

ZUELZER W.W. (1959)

Clinical and haematological aspects of the various haemoglobin syndromes in abnormal haemoglobins.
A symposium (Ed. Jonxis J.H.P. and Delafresnaye J.F.), p. 100
Blackwell. Scientific Publications Ltd Oxford.

SMITH Ch., ERLANDSON M.E., STERN G. and SCHULMAN I. (1960)

The role of splenectomy in the changement of thalassemia.
Blood 15, 197.

WOLF J.A., SITARZ Al., and VAN. HOPE F.H. (1960)

Effect of splenectomy on thalassemia.
Pediatrics 26, 674.

ALLISON A.G. (1961)

Haptoglobine et fer dans la thalassémie.
Haemoglobin. Colloquium 31 Août 1961, p. 94.

FESSAS P.H. (1961)

The beta chain thalassemias in haemoglobin.
Colloquium Vienna (Ed. Lehmann H. and Betke K.) p. 90
Georg Thieme Verlag Stuttgart.

JONES J.H. (1961)

Foetal haemoglobin in Fanconi type anaemia
Nature (London) 192, 983.

JONXIS T.J.M. (1961)

A thalassemia like picture in a Papuan family.
In haemoglobin colloquium Vienna (Ed. Lehmann H. and Betke K.)
Georg. Thieme, Verlag, Stuttgart.

LEHMANN H. (1961)

Haemoglobins and Haemoglobinopathies.
In haemoglobin colloquium Vienna (Ed. Lehmann and Betke K.)
p. i. Georg. Thieme, Verlag, Stuttgart.

LUHBY A.L. and COOPERMAN J.M. (1961)

Folic acid deficiency in thalassemia major.
Lancet 2, 490.

RUCKNAGEL D.L. (1961)

Quoted in the hemoglobinopathies.
Rucknagel D.L. and Neel J.V. Medical genetics, Vol. I (Ed.
Steinberg A.) p. 158. Grune and Strattori New-York.

VITZLEBEN C.L. et WYATT J.P. (1961)

Effet d'une longue survie sur la pathologie d'une thalassémie
majeure.
Journ. Pathol. Bacter t. 82, p. 1.

ZUELZER W.W., ROBINSON A.R. and BOOKER C.R. (1961)

Reciprocal relation ship of hemoglobin A₂ and F in beta chain
thalassemia, a key to the genetic control of hemoglobin F 17,
392.

AKSOY M., EGRIBOZULU A. and ALFÜSTÜN H. (1961)

The thalassemia syndromes I : Thalassemia minor with large
amounts of foetal haemoglobin, study of a family.
Acta Haemat. (Basel) 25, 136.

BANNERMAN R.M., CALLENOER S.T. and WILLIAMS D.L. (1962)

Effect of desferrioxamine and D.T.P.A. in iron overload.
Brit. Med. J. 2, 1573.

BOUSSER (1962)

La thalassémie en France.

MOSELY J.E. (1962)

The thalassemias. Variants and Roentgen bones changes.
Mount Sinai Hosp. 29, 199.

FESSAS P.H. (1963)

Inclusions of hemoglobin in erythroblasts and erythrocytes of
thalassemia.
Blood 21, 21.

FESSAS P.H., STOMATOYANNOPOULOS G. and KEYS A. (1963)

Serum cholesterol and thalassemia trait.
Lancet 1, 882.

NIELSEN J.B. (1963)

Influence of desferrioxamine on the renal excretion of iron.
Acta. Med. Scandinavia 173, 499.

OKCUOGLU A., MINNICH V. and ANDERSON M.E.H. (1963)

Variation of A₂ hemoglobin during pregnancy.
Blood 22, 807.

WOLF J.A. and IGNATOV V.G. (1963)

Heterogeneity of thalassemia major.
Amer J. Dis. child 105, 234.

ENGLE M.A. (1964)

Cardiac involvement in Cooley's anemia. Problems in Cooley's
anemia.
Anns. New-York, Acad. Sci. 119, 694.

GABUZDA T.G., NATHAN D.G. and GARDNER F.H. (1964)

Thalassemia trait. Genetic combinations of increased fetal
and A₂ hemoglobins.
New-Eng. J. Med. 270, 1212.

HILGARTNER M.W. and SMITH E.M. (1964)

Coagulation studies as a measure of liver function in Cooley's
anemia. Problems in Cooley's anemia.
Anns. New-York, Acad. Sci. In press.

WEATHERALL D.J. (1964)

Biochemical phenotypes of thalassemia in the American Negro
population. Problems in Cooley's anemia.
Anns. New-York, Acad. Sci. 119, 450.

WOILMAN J.J. (1964)

The health status of children with Cooley's anemia as related to blood hemoglobin levels. Problems in Cooley's anemia. Anns. New-York. Acad. Sci. 119, 736.

BOUSSER (1965)

La thalassémie en France.

HELLER P., VINCENT J., YAKULIS. (1965)

Mild homozygous beta Thalassemia.
(Annale of Inter medecine) Septembre 1965.

MAILLARME (1965)

La Thalassémie.
Revue du Praticien 11 Septembre 1965.

THOMPSON (1965)

Thalassémie avec absence complète d'hémoglobine A₂ chez un adulte.
Acta Haematol. mars 1965, t. 33, pp. 186, 1960.

ooOoo

REPARTITION GEOGRAPHIQUE DU GENE

CAMINOPETROS J. (1938)

Recherches sur l'anémie érythroblastique infantile de peuples de la méditerranée orientale.
Ann. Med. 43, 104.

GOUTTAS A., FESSAS Ph., TSEVRENIS H. and XIFTERI E. (1955)

Description d'une nouvelle variété d'anémie hémolytique congénitale. (Etude hématologique, électrophorétique et génétique).
Sang 26, 911.

CARCASSI V., CEPPELLINI R. and PITZUS F. (1957)

Frequenza della talassemia in quattro popolazioni sarde e suoi rapporti con la distribuzione dei gruppi sanguigni e della malaria.
Boll ist. Sieroter Milan 36, 206.

WENT L.N. and MACIVER J.E. (1958)

An unusual type of hemoglobinopathy resembling sickle cell thalassemia in a Jamaican family.
Blood 13, 559.

AKSOY M. (1959)

Abnormal haemoglobins in Turkey. In abnormal haemoglobins. A symposium (Ed. Jonkis J.H.P. and Delafresnaye J.F.) p. 216
Blackwell Scientific Publications Ltd. Oxford.

COHEN F., ZUELZER W.W., NEEL J.V. and ROBINSON A.R. (1959)

Multiple inherited erythrocyte anomalies in an American Negro family. Hereditary, spherocytosis, sickling and thalassemia.
Blood 14, 816.

DE SILVA C.C., JONKIS J.H.P. and WICKRAMASINGHE R.L. (1959)

Haemoglobinopathies in Ceylon. In abnormal haemoglobins. A symposium (Ed. Jonkis and Delafresnaye J.F.) p. 340
Blackwell Scientific Publications Ltd. Oxford.

SILVESTRONI E. and BIANCO I. (1959)

The distribution of the microcythaemias (or thalasseмии) in Italy. In abnormal haemoglobins A. Symposium (Ed. Jonxis J.H.P. and Delafresnaye J.F.) p. 242 Blackwell Scientific Publications Ltd. Oxford.

BANNERMAN R.M. and CALLENDER S.T. (1961)

Thalassemia in Britain.
Brit. Med. J. 2, 1288.

CALLENDER S.T., MALLET B.J. and LEHMANN H. (1961)

Thalassemia in Britain.
Brit. J. Haemat. 7.1.

GOUTTAS

Les expressions du gène thalassémique. Grèce hémoglobine.
Colloquium 31 Août 1961, p. 90.

JONKIS T.J.H. (1961)

Thalassemia like picture in a Papuan family.
In haemoglobin, colloquium Vienna (Ed. Lehmann H. and Betke K.) Georg. Thieme, Verlag et Stuttgart.

VELLA F. and IBRAHIM S.A. (1961)

Thalassemia in an English and in a German family.
Nature (London) 191, 822.

WENT L.N. and Mac IVER J.E. (1961)

Thalassemia in the West Indies.
Blood 17, 166.

BARKHAN P. and ADINOLF M. (1962)

Observations on the high foetal haemoglobin gène and its interaction with the thalassemia gène.
J. Clin. Path. 15, 350.

MALAMOS B., FESSAS Ph. and STOMATOYANNOPOULOS G. (1962)

Types of thalassemia trait carriers as revealed by a study of their incidence in Greece.
Brit. J. Haemat. 8, 5.

MARTI H.R.

Formes d'hémoglobinopathies observées en Suisse.
Soweiz. Med. Wechenschr. 1962, t. 92, p. 1313.

BUCHANAN K.D., KINLOCH J.D., HUTCHISON H.E., PINKERTON P.H. and CASSIDY P. (1963)

Thalassemia in Scotland.
J. Clin. Path. 16, 596.

CHOREMIS C., FESSAS Ph. KATTAMIS C., STOMATOYANNOPOULOS C., ZANNOS-MARICLEA L. (1963)

Three inherited red-cell abnormalities in a district of Greece.
Lancet I, 907.

CHOREMIS C., FESSAS P., KATTAMIS C., MOTULSKY A.G. (1964)

Genetical aspects of complete village surveys in the arta area of Greece for thalassemia and its interaction with Hb S and G-6-PD deficiency. Problems in Cooley's anemia.
Ann. New-York. Acad. Sci. 119, 415.

CURTAIN C.C. (1964)

A structural of abnormal haemoglobins occurring in New-Guinea.
Australien J. Exper. Biol. Med. Sci. 42, 89.

BERNARD Jean

Progrès en hématologie.
Revue du Praticien du 9 Décembre 1964.

GOLDSTEIN M.A., PATPONGPANIJ N. and MINNICH V. (1964)

The incidence of elevated hemoglobin A₂ levels in the American Negro.
Ann. Int. Med. 60, 95.

RAMOT B., ABRAHAMOV A., FRAYER Z. and GAFNI D. (1964)

The incidence of types thalassemia-trait carriers in Israel.
Brit. J. Haemat. 10, 155.

ASSOCIATIONS THALASSEMIE - HEMOGLOBINOSES

THALASSEMIE - HEMOGLOBINE S

SILVESTRONI E. and BIANCO I. (1944-45)

Microdrepanocitoanomia in un sogetto di razza bianca.
Bull. Acad. Med. Roma. 70, 347.

NEEL J.V., ITANO H.A. and LAWERENCE J.S. (1953)

Two cases of sickle-cell disease presumably due to the
combination of the genes for thalassemia and sickle-cell
hemoglobin.
Blood. 8, 434.

SMITH E.W. and CONLEY C.L. (1954)

Clinical features of the genetic variants of sickle-cell
disease.
Bull., Johns Hopkins. Hosp. 93, 94.

SILVESTRONI E. and BIANCO I. (1955)

La malattia microdrepanocitica.
Il pensiero scientifico. Editore. Roma.

AKSOY M. et LEHMANN H. (1957)

Sickle-cell thalassemia disease in South Turkey.
Brit. Med. J. I. 734.

CHOREMIS C. and ZANNOS L. (1957)

Microdrepanocytic disease in Greece.
Blood. 12, 454.

SINGER K., JOSEPHSON A.M., SINGER L. (1957)

Studies on abnormal hemoglobins XIII. Hemoglobin S. Thalas-
semia disease and hemoglobin C. Thalassemia disease in sibling.
Blood. 12, 593.

BROWN D.E. and OBER W.B. (1958)

Sickle cell thalassemia (micro-drepanocytic disease) in pre-
gnancy.
Amer. J. Obst. Gyn. 75, 773.

RAPER A.B., GAMMACK D.B., HUEHNS E.R. (1960)

Four haemoglobins in one individual. A study of the genetic interaction of Hb G and Hb C.
Brit. Med. J. 2, 1257.

REYNOLDS W.A. (1962)

Benign sickle cell thalassemia disease and cryptic thalassemia in a Negro family.
Ann. Int. Med. 57, 121.

RUSSO G. and MOLLIKA F. (1962)

Sickle cell haemoglobin and two types of thalassemia in the same family.
Acad. Haemat. (Basel) 28, 329.

AKSOY M. (1963)

The first observation of homozygous haemoglobin S. alpha thalassemia disease and two types of sickle cell thalassemia disease.
a) Sickle cell alpha thalassemia disease.
b) Sickle cell beta thalassemia disease.
Blood. 22, 757.

CHARACHE S. and CONLEY Cl. (1964)

Rate of sickling of red cells during deoxygenation of blood from persons with various sickling disorders.
Blood. 24, 25.

THALASSEMIE - HEMOGLOBINE C.

SMITH E.W. and CONLEY Cl. (1953)

Filter paper electrophoresis of human hemoglobins with special reference to the incidence of clinical significance of hemoglobin C.
Bull. Johns Hopkins. Hosp. 94, 93.

SINGER K., KRAUS A.P., SINGER L. (1954)

Studies on anormal hemoglobins X. A new syndrome : hemoglobin C. thalassemia disease.
Blood. 9, 1032.

ZUELZER W.W. and KAPLAN E. (1954)

Thalassemia hemoglobin C. disease. A new syndrome presumably due to a combination of the genes for thalassemia and hemoglobin C.
Blood. 9, 1947.

ERLANDSON M.E., SMITH C.H. and SHULMAN I. (1956)

Thalassemia hemoglobin C. disease in white siblings.
Pediatrics 17, 140.

SMITH E.W. and TORTBERT J.V. (1958)

Two abnormal hemoglobins with evidence for a new genetic
locus for hemoglobin formation.
Bull. Johns Hopkins. Hosp. 102, 38.

RAPER A.B., GAMMACK D.B., HVEHNS E.R. and SHOOTER E.M. (1960)

Four haemoglobins in one individual. A study of the genetic
interaction of Hb G and Hb C.
Brit. Med. J. 2, 1257.

GÖKSEL V. and TARTAROGLU N. (1961)

Hämoglobin C. thalassemie.
In haemoglobin Colloquium Vienna (ed. Lehmann H. and Betke K.)
p. 55. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

KRAUS A.P., KOCH B. and BURCKETT L. (1961)

Two families showing interaction of haemoglobin C. or thalas-
semia with high foetal haemoglobin in adults.
Brit. Med. J. I. 1434.

Mc. CURDY P.R. and PEARSON H.A. (1961)

Genetic study of a family possessing hemoglobins S. and C.
and classical thalassemia.
Amer. J. Hum. Genet, 13, 390.

LEE R. and HUISMAN T.J.H. (1963)

Study of a family possessing hemoglobin C. classical thalasse-
mia and the abnormal minor component A₂¹.
Amer. J. Human Genet 15, 69.

THALASSEMIE - HEMOGLOBINE E.

CHERNOFF A.I., MINNICH V. and CHONGCHAEONSUK S. (1954)

Hemoglobin E. a hereditary abnormality of human hemoglobin.
Science 120, 605.

MINNICH V., NA NAKORN S., CHONGCHAEONSUK S. (1954)

Mediterranean anemia. A study of thirty-two cases in
thailand.
Blood 9, L.

- CHERNOFF A.I., MINNICH, NA NAKORN S., TUCHINDAS, and CHERNOFF R.R. (1956)
Studies on hemoglobin E.I. The clinical hematologie and genetic characteristics of the hemoglobin E. syndromes.
J. Lab. Clin. Med. 47, 455.
- AKSOY M. and LEHMANN H. (1957)
Sickle-cell thalassemia disease in South Turkey.
Brit. Med. J. I, 734.
- SUNDHARAGIATI B. and VISESKHAKUI D.
Recherches sur le papier électrophorétique sur la Hb E. dans la population du Nord Oriental de Thaïlande.
Med. Jour. Dept. Med. Serv. (Bangkok) 1958, t. 7, p. 411.
- CHATTERJEA J.B. (1959)
Haemoglobinopathy in India. In abnormal haemoglobins A. Symposium (ed. Jonxis J.H.P. and Delafresnaye J.F.) p. 322
Blackwell scientific publications Ltd. Oxford.
- NA NAKORN (1959)
Haemoglobinopathies in Thailand. In abnormal haemoglobin . A symposium (ed. Jonxis J.H.P. and Delafresnaye J.F.) p. 357
Blackwell scientific publications Ltd. Oxford.

THALASSEMIE - HEMOGLOBINE G.

- EDINGTON G.M. and LEHMANN H. (1955)
Expression of the sickle cell gene in Africa.
Brit Med. J. I. 1308 and II, 1328.
- SCHWARTZ H.C., SPAET T.H., KAUFMAN S.F. (1957)
Combinations of hemoglobin G., hemoglobin S. and thalassemia occurring in one family.
Blood. 12, 238.
- SILVESTRONI E. and FRANCO I. (1958)
Associazione di Hb G. e microcitemia in due membri di una famiglia Italiana del ferrarese.
Policlinico Sez. Prat. 55, 203.
- SHOOTER E.M., SKINNER E.R., BARNICOT N.A. (1960)
The electrophoretic characterisation of hemoglobin G. and a new component G₂.
Brit. J. Haemat. 6, 140.

THALASSEMIE - HEMOGLOBINE D.

HYNES M. and LEHMANN (1956)

Haemoglobin D. in a Persian girl ; presumably the first case of haemoglobin D. thalassemia.

Brit. Med. J. 2, 923.

SUKEMERAN P.K., SANGHVI L.D. and NAZRETH F.A. (1960)

Haemoglobin D. Thalassemia A. report of two families.

Acta. Haemat. (Basel) 23, 309.

THALASSEMIE - HEMOGLOBINE I.

ATWATER J., SCHWARTZ I.R. and TOCANTINS L.M. (1960)

A variety of human haemoglobin with 4 distinct electrophoretic components.

Blood. 15, 901.

THALASSEMIE - HEMOGLOBINE J.

SANGHVI L., SUKUMARAN P.K. and LEHMANN (1958)

Haemoglobin J. Trait in two Indian women, associated with thalassemia in one.

Brit. Med. J. 2, 808.

WEATHERAL D.J. (1964)

- Hemoglobin J. (Baltimore) co-existing in a family with haemoglobin S.

Bull. Johns Hopkins. Hosp. 114, 1.

ALPHA THALASSEMIE - HEMOGLOBINE Q.

DORMANDY K.M., LOCK S.P. and LEHMANN (1961)

Haemoglobin Q alpha-thalassemia.

Brit. Med. J. 1, 1582.

LIE INJO LUAN ENG and DE V. HART P.L. (1963)

Splenectomy in two cases of haemoglobin Q.H. disease (Hb Q. α thalassemia).

Acta. Haemat. (Basel) 29, 358.

THALASSEMIE - HEMOGLOBINE N.

SILVESTRONI E. and BIANCO (1961)

Association of haemoglobin N. and microcythaemia in a Sardinian family.

Nature (London) 191, 1208.

THALASSEMIE - HEMOGLOBINE B₂ (ou A₂¹)

HUISMAN T.J.H., PUNT K. and SCHAAD D.G. (1961)

Thalassemia minor associated with hemoglobin B₂, heterozygosity.

Blood. 17, 747.

ooOoo

HEMOGLOBINE LEPORE

PEARSON H.A., GERALD P.S. and DIAMOND L.K. (1959)

Thalassemia intermedia due to interaction of Lepore trait with thalassemia trait.

A.M.A.J. Dis. child. 97, 494.

GERALD P.S., EFRON M.L. and DIAMOND L.K. (1961)

A human mutation (the Lepore hemoglobinopathy) possibly involving two cistrons.

Amer J. Dis. child 102, 514.

NEEB H., BEIBOER J.L., JONXIS T.J.H., KAARS S.J., PESTEIJN J.A. and MULLER C.J. (1961)

Homozygous Lepore haemoglobins disease appearing as Thalassemia major in two Papuan siblings.

Trop. geograph. Med. 13, 207.

BAGLIONI C. (1962)

The fusion of two peptide chains in hemoglobine Lepore and its interpretation as a genetic deletion.

Proc. Nat. Acad. Sci. 48, 1880.

BARNABAS J. and MÜLLER C.J. (1962)

Haemoglobine Lepore (Hollandia).

Nature (London) 194, 931.

FESSAS P.H. and KARAKLIS A. (1962)

Two dimensional paper agar electrophoresis of haemoglobin. Clin. Chim. Acta. 7, 133.

STOMATOYANNOPOULOS G. and FESSAS Ph. (1962)

Observations on hemoglobins "Pylos". The hemoglobin Pylos - hemoglobin S. combination J. Lab. Clin. Med. 62, 193.

BAGLIONI C. (1963)

The fusion of two genes in carriers of hemoglobin Lepore. Atti. Ass. Genet It. Pavia 8, 86.

BAGLIONI C. (1963)

The chemical structure of hemoglobin Lepore and its interpretation as the result of non homologous crossing-over.
In Genetics Today. Proc. XI. International Congress of Genetics, the Hague p. 295, Mac Millan, New-York.

BOYER S.H., RUCKNAGEL D.L., WEATHERALL D.J. and WATSON-WILLIAMS E.J. (1963)

Further evidence for linkage between the β and S. loci governing human hemoglobin and the population dynamics of linked genes.
Amer. J. Human Genet 15, 438.

HORTON B. and HUISMAN T.J.H. (1963)

Linkage of the β chain and S chain structural genes of human hemoglobins.
Amer J. Human Genet 15, 394.

BEAVEN G.H., GRATZER W.B., SHOOTER E.M. (1964)

An abnormal haemoglobin (Lepore/Cyprus) resembling haemoglobin Lepore and its interaction with thalassemia.
Brit. J. Haemat. 10, 159.

MOORE M.M. and PEARSON H.A. (1964)

Human hemoglobin gene linkage with an apparent crossing-over between thalassemia and delta loci.
Clin. Res. 12, 34.

BIANCO I. et BRANCATI C. (1965)

Un cas de maladie de l'hémoglobine Lepore. Microcytémie dans une famille Calabraise.
Peliclinice (Prat.) 17 Mai 1965, t. 72, pp. 661, 665.

PERSISTANCE HEREDITAIRE DE L'HEMOGLOBINE FOETALE

JACOB G.F. and RAPER A.B. (1958)

Hereditary persistance of foetal haemoglobin production and its interaction with the sickle cell trait.
Brit. J. Haemat. 4, 1368.

BRADLEY T.B. Jr. and CONLEY Cl. (1960)

Studies of an inherited disorder manifested by persistance of foetal hemoglobin.
Trans. Ass. Amer Physicians 73, 72.

HERMAN E.C. Jr. and CONLEY Cl. (1960)

Hereditary persistance of foetal hemoglobin.
A family study. Amer. J. Med. 29, 9.

MC. CORMICK W.F. and HUMPHREYS E.W. (1960)

High foetal hemoglobin C. disease ; a new syndrome.
Blood 16, 1736.

BRADLEY T.B. Jr., BRAWNER J.N.II and CONLEY Cl. (1961)

Further observations on an inherited anomaly characterized by persistance of foetal hemoglobin.
Bull. Johns Hopkins. Hcsp. 108, 242.

BRUMPT L.C., TRAVERSE P.M. and COQUELET M.L.

La pseudo-thalassémie des Africains ; les porteurs sains d'hémoglobine foetale.
C.r. Soc. Biol. 1961, t. 155, p. 241-243.

FESSAS P.H., STOMATOYANNOPOULOS G., KARAKLIS A. (1961)

Hereditary persistance of foetal hemoglobin and its combination with alpha and with beta thalassaemia.
Proc. 8 th long Europ. Soc. Haemat. Vienna 1961, p. 302 S Karger Basel.

OLIVIA J. and MYERSON R.M. (1961)

Hereditary persistance of foetal hemoglobin.
Amer J. Med. Sci. 241, 215.

SCHNEIDER R.G., LEVIN W.C. and EVERETT C. (1961)

A family with S and C hemoglobins and the hereditary persistence of F hemoglobin.
New-Eng. J. Med. 265, 1278.

TRAVERSE P.M. (1961)

Porteurs sains d'Hb F (pseudo-thalassémie des Africains).
Haemoglobin Colloquium 31 Août 1961, p. 101.

WHEELER J.T. and KREVANS J.R.

The homozygous state of persistent foetal hemoglobin and the interaction of persistent foetal hemoglobin with thalassemia.
Bull. Johns Hopkins Hosp. 109, 217.

MANGANELLI G., DALFINO G. and TANNOIA N. (1962)

Su de un caso di associazione tra talassemia e persistenza ereditaria di emoglobina fetale.
Haematologica 47, 353.

SCHROEDER W.A. (1962)

Chemical investigation of hemoglobin F from an individual with persistent foetal haemoglobin.
Nature (London) 193, 1161.

BAGLIONI C. (1963)

A child homozygous for persistence of foetal haemoglobin.
Nature (London) 198, 1197.

CONLEY C.L., WEATHERALL D.J., RICHARDSON S.N., SHEPHERD M.K. and CHARACHE C. (1963)

Hereditary persistence of foetal hemoglobin : a study of 79 affected persons in 15 Negro families in Baltimore.
Blood 21, 261.

WATSON-WILLIAMS E.J. (1963)

Hereditary persistence of foetal haemoglobin and δ thalassemia in Nigerians. Symposium on abnormal haemoglobins. Ibadan.
In press.

FESSAS Ph. and STOMATOYANNOPOULOS G. (1964)

Hereditary persistence of foetal hemoglobin. A study and a comparison. In press.

WARRINGTON R.L., BELL W.N. and THOMPSON R.B. (1965)

Interaction between persistent Hb F gene and delta chain type of thalassemia.
Clin. Res. 13, 38.

ALPHA THALASSEMIE

HUNT J.A. and LEHMANN H. (1959)

Haemoglobin Bart's. A foetal haemoglobin without α chains.
Nature (London) 184, 872.

LIE INJO LUAN ENG (1959)

Haemoglobin of new born infants in Indonesia.
Nature (London) 183, 1125.

LIE INJO LUAN ENG (1959)

Pathological hemoglobins in Indonesia. In abnormal haemoglobins.
A symposium (ed. Jonxis J.H.P. and Delafresnaye J.F.) p. 368.
Blackwell Scientific Publications Ltd. Oxford.

TUCHINDA S., VAREENIL C., MINNICH V. (1959)

Fast hemoglobin component found in umbilical cord blood of
Thai babies.
Pediatrics 24, 43.

HUEHNS E.R., FLYNN F.V., BUTLER E.A. and SHOOTER E.M. (1960)

The occurrence of haemoglobin Bart's in conjunction with
haemoglobin H.
Brit. J. Haemat. 6, 388.

HUISMAN T.J.H. (1960)

Properties and inheritance of the new fast haemoglobin
type found in umbilical cord blood samples of negro babies.
Clin. Chim. Acta 5, 709.

LIE INJO LUAN ENG (1962)

Alpha chain thalassemia and hydrops fetalis in Malaya
report of five cases.
Blood 22, 581.

LIE INJO LUAN ENG and V. HART P.L. (1963)

Splenectomy in two cases of haemoglobin Q.H. disease (Hb Q α
thalassemia).
Acta Haemat. (Basel) 29, 358.

WEATHERALL D.J. (1963)

The diagnosis of α -thalassemia read at 57 th. Meeting of
the Assoc. Physicians G. Britain and Ireland. St. Andrews 1963.
Quart J. Med. 32, 373.

WEATHERALL D.J. (1964)

The relationship of hemoglobins Bart's and H to α thalassemia.
Problems in Cooley's anemia.
Anns New-York Sci. 119, 463.

ooOoo

HEMOGLOBINOPATHIE H.

RIGAS D.A., KOLER R.D. and OSGOOD E.E. (1955)

New haemoglobin possessing a higher electrophoretic mobility than normal adult hemoglobin.
Science 121, 372.

MOTULSKY A.G. (1956)

Genetic and haematologic significance of haemoglobin H.
Nature 178, 1055.

BINGLE J.P., HUEHNS E.R. and PRANKERD T.A.J. (1958)

Haemoglobin H disease.
Brit. med. J. 2, 1389.

BRAIN M.C. and VELLA F. (1958)

Haemoglobin H trait in a Nepalese - Gurkha woman.
Lancet I 192.

JIM R.T.S. (1958)

Hemoglobin H disease.
Arch. Int. Med. 102, 400.

MINNICH V., NA-NAKORN S., TUCHINDA S. (1958)

Inclusion body anemia in Thailand (Hemoglobin H - Thalassémie disease).
Proc. Sixth Cong. Int. Soc. Hemat., Boston, p. 743. Grune and Stralton, New-York.

VELLA F., WELLS R.H.C., AGER J.A.M. (1958)

A haemoglobinopathy involving haemoglobin H and a new (Q) haemoglobin.
Brit. Med. J. 1, 752.

WOLF J.A., MICHAELS R.H. (1958)

Hemoglobin H. thalassemia disease.
Blood. 13, 492.

JONES R.T., SCHROEDER W.A., BALOG J.E. (1959)

Gross structure of hemoglobin H.
J. Amer. Chim. Soc. 81, 3161.

RAMOT B., SHEBA Ch., AGER J.A.M. and LEHMANN H. (1959)

Haemoglobin H disease with persistent hemoglobin Bart's
in an Oriental jewess and daughter. A dual alpha-chain defi-
ciency.
Brit. Med. J. 2, 1228.

VELLA F. and PAUL F. (1959)

Haemoglobin H trait in a six month old chinese boy.
Asian Med. J. 92, 30.

BERGREN W.R. and STURGEON P. (1960)

Hemoglobin H. Some additional findings. Proc. 7 th Int.
Congress. of Hematology p. 488 Grune and Stratton, New-York.

BIANCO I. and MUZZOLINI M. (1960)

Studio clinico ematologico e genetico di 4 nuovi casi di
malattia da Hb H microcitemia.
Prog. Med. (Napoli), 15, 636.

DITTMAN W.A., HAUT A., CARTWRIGHT G.E. (1960)

Hemoglobin H associated with an uncommon variant of thalas-
semia trait.
Blood 16, 975.

HUISMAN T.J.H. (1960)

Properties and inheritance of the new fast hemoglobin type
found in umbilical cord blood samples of Negro babies.
Clin. Chim. Acta. 5, 709.

HUISMAN T.J.H. (1960)

Genetic aspect of two different minor components found in
cord blood samples of Negro babies.
Nature (London).

BENESH R.E., RANNEY H.M., BENESH R. (1961)

The chemistry of the Bohr effect II. Some properties of
hemoglobin H.
J. Biol. Chem. 236, 2926.

FESSAS Ph., STOMATOYANNOPOULOS G. and KARAKLIS (1961)

Hereditary, persistence of foetal haemoglobin and its combina-
tion with alpha and with beta-thalassemia.
Proc. 8 th. Cong. Europ. Soc. Haemat. Vienna, 1961, p. 302
S. Karger, Basel.

KOLER R.D. and RIGAS D.A. (1961)

Genetics of hemoglobin H.
Ann. Hum. Genet. (London) 25, 95.

RIGAS D.A. and KOLER R.D. (1961)

Decreased erythrocyte survival in hemoglobin H disease as
a result of the abnormal properties of Hemoglobin H. The
benefit of splenectomy.
Blood 18.

BERNINI L., COLUCCI C.F., DEMICHELE D. (1962)

A possible case of alpha, beta-thalassemia.
Acta genet (Basel) 12, 202.

JIM R.T.S. (1962)

Haemoglobin H disease in Hawaii.
Acta Haemat. (Basel) 27, 274.

DANCE N., HUEHNS E.R. and BEAVEN G.H. (1963)

The abnormal haemoglobins in haemoglobin H disease.
Biochim. J. 87, 240.

JONES R.T. and SCHROEDER W.A. (1963)

Chemical characterisation and subunit hybridization of
human hemoglobin H and associated compounds.
Biochemistry 2, 1357.

GABUZDA T.G., NATHAN D.G. (1964)

The metabolism of individual hemoglobins in hemoglobin H
thalassemia.
Clin. Research 12, 225.

WOODROW J.C., NOBLE R.L. (1964)

Haemoglobin H disease in an English family.
Brit. Med. J. 1, 36.

RECHERCHES METABOLIQUES DANS LA THALASSEMIE

DAMASHEK W. (1940)

Target cell'anemia ; an erystoblastic type of Cooley's erystoblastic anemia.
Amer J. Med. Sci. 200, 445.

KAPLAN E. and ZUELZER W.W. (1950)

Erythrocyte survival studies in childhood II. Studies in Mediterranean anemia.
J. Lab. Clin. Med. 36, 517.

LUDWIN L., LIMENTANI and DAMASHEK W. (1952)

Linkage tests of Mediterranean anemia with blood types, Rh. factors and eye color.
Amer. J. Hum. Genet. 4, 182.

LICHTMAN H.C., WATSON R.J. (1953)

Studies on thalassemia I. An extracorpuscular defect in thalassemia major.
J. Clin. Invest. 33, 1229.

ERLANDSON M.E., SHULMAN I. (1958)

Studies on congenital hemolytic syndroms I. Rates of destruction and production of erythrocytes in thalassemia.
Pediatrics 22, 910.

LARIZZA P., VENTURA S. (1958)

Contributo alla conoscenza dell'anemia talassemica (Ricerche condotte con l'ausilio del Fe 59).
Haematologica 43, 517.

BANNERMAN R.M., GRINSTEIN M. (1959)

Haemoglobin synthesis in thalassemia ; in vitro studies.
Brit. J. Haemat. 5, 102.

CROSBY W.H. (1959)

Normal fonctions of the spleen relative to red blood cells.
A review. Blood 14, 399.

ALLEN D.W. and JANDL J.H. (1960)

Kinetics of intracellular iron in rabbit reticulocytes.
Blood 15, 71.

DACIE J.V. (1960)

The haematolytic anemias.
Part I The Congenital Anemias 2nd edition, Churchill Ltd.,
London.

GRINSTEIN M., BANNERMAN R.M. (1960)

Hemoglobin metabolism in thalassemia in vivo studies.
Amer. J. Med. 29, 18.

PEARSON H.A., Mc FARLAND W. (1960)

Erythrokinetic studies in thalassemia trait.
J. Lab. Clin. Med. 56, 866.

BANNERMANN R.M. and CALLENDER S.T. (1961)

Iron absorption in thalassemia.
Cited by Bannerman R.M. 1961.

DINTZIS H.N. (1961)

Assembly of the peptide chains of hemoglobin.
Proc. Nat. Acad. Sci. 47, 247.

FAHEY J., RATH C.E., PRINCIOTTO (1961)

Evaluation of trisodium calcium diethylenetriamine penta-
cetate in iron storage disease.
J. Lab. Clin. Med. 57, 436.

HUENS E.R. and SHOOTER E.M. (1961)

Polypeptide chains of haemoglobin A₂.
Nature 189, 918.

MALAMOS B., BELCHER E.H., BINOPOULOS D. (1961)

Simultaneous studies with Fe⁵⁹ and Cr³¹ in congenital haemo-
lytic anemia.
Nuel. Med. (Stuttgart) 2, 1.

GREENOUCH W.B. III, PETERS T. Jr. and THOMAS (1962)

An intracellular intermediate for hemoglobin formation.
J. Clin. Invest. 41, 1116.

LINGREL J.B. and BORSOOK H. (1962)

Haemoglobin minors as possible intermediate in haemoglobin
synthesis.
Nature (London) 195, 355.

SMITH R., SEPHTON (1962)

Iron excretion in thalassemia major after administration of chelating agents.
Brit. Med. J. 2, 1577.

PEARSON H.A. and Mc FARLAND W. (1962)

Erythrokinetics in thalassemia II. Studies in Lepore trait and hemoglobin H disease.
J. Lab. Clin. Med. 59, 147.

DACIE J.V. and LEWIS S.M. (1963)

Practical haematology 3rd edition Grune and Stratton, Inc.
New-York.

DINTZIS H.M. and KNOPF P.M. (1963)

Cell free synthesis of hemoglobin.
In symposium of informational macromolecules p. 375. Academic Press. Inc. New-York.

GABUZDA T.G., NATHAN D.G. and GARDNER F.H. (1963)

The turnover of hemoglobins A₁F and A₂ in the peripheral blood of the three patients with thalassemia.
J. Clin. Invest. 42, 1678.

MALAMOS B., BELGHER E.H., GYFTAKI E. (1963)

Simultaneous radioactive tracer studies of erythropoiesis and red cell destruction in sickle cell disease and sickle cell hemoglobin/thalassemia.
Brit. J. Haemat. 9, 487.

CROSBY W.H. and CONRAD M.E. (1964)

Iron balance in thalassemia minor. Problems in Cooley's anemia.
Ann. New-York. Acad. Sci. 119, 616.

GABUZDA T.G., NATHAN D.G. and GARDNER F.H. (1964)

The bending of chromium⁵¹ to hemoglobins A and H during labelled red cell survival.
Clin. Research 12, 224.

HUEHNS E.R. and HECHT F. (1964)

Developmental hemoglobin anomalies in a chromosomal triplication : D₁ trisomy syndrome.
Proc. Nat. Acad. Sci. 51, 89.

GRECO A.V., CARBONIN P.V. and BORGATTI L.

Sur le métabolisme érythrocytaire dans la maladie de Cooley. L'incorporation de la glycine IC¹⁴ dans le glutathion.
(Riforma Med. 12 juin 1965, t. 79, pp. 645-649).

RECHERCHES SUR L'HEMOGLOBINE

ALTSCHUL A.M. et SIDWELL A.E. (1939)

Note sur la préparation et sur les propriétés de l'hémoglobine.
Jour. Biol. Chem. 1939, t. 127, p. 123.

SINGER K., CHERNOFF A.I. and SINGER L. (1951)

Studies on abnormal hemoglobins I. Their demonstration in sickle-cell anemia and other hematologic disorders by means of alkali denaturation.
Blood. 6, 413.

SINGER K. and FISHER B. (1952)

Studies on abnormal hemoglobins V. The distribution of type S (sickle-cell) hemoglobin and type F (alkali resistant) hemoglobin within the red cell population in sickle-cell anemia.
Blood 7, 1216.

ROCHE J., DERRIEN Y., DIANCONO G. and ROQUES M. (1953)

Sur les hémoglobines humaines au cours des thalassémies. Mineure maladie de Rietti-Greppi-Micheli et majeure (anémie de COOLEY).
C.R. Soc. Biol. (Paris) 147, 771.

SCHAPIRA G. et DREYFUS J.C.

Physiopathologie de l'hémoglobine et du globule rouge étudiée à l'aide du fer radioactif.
Sang 1953, t. 24, p. 142.

TISELIUS A. and FLODIN P.

Electrophorèse de zones.
Adv. Protein. Chim. 1953, t. 8, p. 461.

PENATI F. et TURCO G.L.

Etudes sur l'hémoglobine dans les états normaux et pathologiques (thalassémie) 3. Recherche au moyen de la dénaturation alcaline fractionnée.
Haematologica, 1954, t. 38, p. 1411.

MOTULSKY A.G., PAUL M.H. and DURRUM E.L. (1954)

Paper electrophoresis of abnormal hemoglobins and its clinical applications. A simple semi quantitative method for the study of the hereditary hemoglobinopathies.
Blood 9, 897.

KUNKEL H.G. and WALLENIUS G. (1955)

New hemoglobin in normal adult blood.
Science 122, 288.

HUISMAN T.J.H., PRINS H.K. and VAN DER SCHAAF P.C. (1955)

Is alkali resistant haemoglobin in Cooley's anaemia different from foetal haemoglobin.
Experientia (Basel) 12, 107.

SHAVIT N. et BREUER M.

Hétérogénéité électrophorétique de l'hémoglobine humaine adulte normale à des forces ioniques basses et à des températures élevées.
Bioch. Bioph. Acta. 1955, t. 18, p. 241.

PENATTI F., LOVISETTO P. et TURCO G.L.

Les hémoglobines normales et pathologiques.
Edizioni Haematologica, Pavia 1956 XXII.

CARCASSI V., CEPPELLINI R. and PITZUS F. (1957)

Frequenza della thalassemia in quattro popolazioni sarde e suoi rapporti con la distribuzione dei gruppi sanguigni e della malaria.
Boll. Ist. Sieroter. Milan 36, 206.

KLEIHAUER E., BRAUN H. and BETKE K. (1957)

Demonstration von fetalem hämoglobin in den Erythrocyten eines. Blutaussstrichs. Klin. Wochr. 35, 637.

KUNKEL H.G., CEPPELLINI R., MULLER-EBERHARD V. and WOLF J. (1957)

Observations on the minor basic hemoglobin component in blood of normal individuals and patients with thalassemia.
J. Clin. Invest. 36, 1615.

MARINONE G. and BERNASCONI C. (1957)

Studio elettroforetico quantitativo su blocco d'amido dell'emoglobina normale e dei talassemici.
Haematologica 42, Suppl. I.

AGER J.A.M. and LEHMANN H. (1958)

Observations on some "fast" haemoglobins : K, J, N and "Bart's".
Brit. Med. J. 1, 929.

DERRIEN Y. (1959)

On the heterogeneity of human haemoglobins. In abnormal haemoglobins.

A symposium (ed. Jonxis F.H.P. and Delafresnaye J.F.), p. 63. Blackwell Scientific Publications Ltd., Oxford.

FESSAS Ph. (1959)

Thalassaemia and alterations in the haemoglobin pattern. In abnormal haemoglobins.

A symposium (ed. Jonxis J.H.P. and Delafresnaye J.F.), p. 134. Blackwell Scientific Publications Ltd., Oxford.

FESSAS Ph. and MASTROKALOS N. (1959)

Demonstration of small components in red cell haemolysates by starch gel electrophoresis.

Nature (London), 183, 30.

MARDER V.J. and CONLEY C.L. (1959)

Electrophoresis of hemoglobin on agar gels.

Bull. Johns Hopkins Hosp. 105, 77.

SINGER S.J. and ITANO H.A. (1959)

On the asymmetrical dissociation of human hemoglobin.

Proc. Nat. Acad. Sci. 45, 174.

VELLA F. (1959)

Haemoglobin A₂ estimations by starch block electrophoresis.

Med. J. Malaya 14, 31.

VELLA F. (1959)

Heterogeneity of human foetal haemoglobin. The incidence of foetal variants in Singapore.

Nature (London), 184, 272.

WHITE J.C. and BEAVEN G.H. (1959)

Foetal haemoglobin.

Brit. Med. Bull. 15, 33.

BEAVEN G.H., ELLIS M.J. and WHITE J.C. (1960)

Studies on human foetal haemoglobin I. Detection and estimation.

Brit. J. Haemat. 6, 1.

BUTLER E.A., FLYNN F.V. and HUEHNS E.R. (1960)

The haemoglobin of foetal blood.

Clin. Chim. Acta. 5, 571.

GRATZNER W.R. and BEAVEN G.H. (1960)

Transparent starch gels. Preparation, optical properties and application to haemoglobin characterisation.
Clin. Chim. Acta. 5, 577.

HUISMAN T.J.H. and MEYERING C.A. (1960)

The heterogeneity of different human hemoglobins in carboxymethylcellulose and in Amberlite IRC 50 chromatography.
Qualitative aspects. Clin. Chim. Acta. 5, 103.

LEHMANN H. and AGER J.A.M. (1960)

The laboratory detection of abnormal haemoglobins.
Assoc. Clin. Path., Broadsheet N° 27 (Nero Series), p.6.

WHITE J.C., ELLIS M.J., COLEMAN P.N., BEAVEN G.H., GRATZER W.B., SHOOTER E.M. and SKINNER E.R. (1960)

An unstable haemoglobin associated with some cases of leukaemia.
Brit. J. Haemat. 6, 171.

BEAVEN G.H., ELLIS M.J. and WHITE J.C. (1961)

Studies on human foetal haemoglobin III. The hereditary haemoglobinopathies and thalassaemia.
Brit. J. Haemat. 7, 169.

GAMMACK D.B., HUEHNS E.R., LEHMANN H. and SHOTTER E.M. (1961)

The abnormal polypeptide chains in a number of haemoglobin variants.
Acta Genet. 11, 1.

HORTON B., PAYNE R.A., BRIDGES M.T. and HUISMAN T.J.H. (1961)

Studies on an abnormal minor hemoglobin component (Hb - B₂).
Clin. Chim. Acta. 6, 243.

HUISMAN T.J.H. and DOZY A.M. (1961)

Quantitative determination of the minor hemoglobin component Hb - A₂ by DEAE cellulose chromatography.
Anal. Biochem. 2, 400.

IBBOTSON R.N. and CROMPTON B.A. (1961)

Quantitative determination of haemoglobin A₂ using paper electrophoresis.
J. Clin. Path. 14, 164.

SILVESTRONI E. and BIANCO I. (1961)

Abnormal foetal haemoglobins.
Nature (London), 191, 397.

THOMPSON R.B., MICHENER J.W. and HUISMAN T.J.H. (1961)

Studies on the foetal hemoglobin in the persistent high
Hb. - F anomaly.
Blood 18, 267.

FESSAS Ph. and STOMATOYANNOPOULOS G. (1962)

Absence of haemoglobin A₂ in an adult.
Nature (London), 115, 1215.

GUIDOTTI G. (1962)

Thalassemia.
In Conference on Hemoglobin. Arden House, Columbia Univ.,
New-York.

SHEPHERD M.K., WEATHERALL D.J. and CONLEY C.L. (1962)

Semi-quantitative estimation of distribution of foetal hemoglobin in red cell populations.
Bull. Johns Hopkins Hosp. 110, 293.

SHAHIDI N.T., GERALD P.S. and DIAMOND L.K. (1962)

Alkali-resistant hemoglobin in aplastic anemia of both acquired and congenital types.
New-Engl. J. Med. 266, 117.

BOTTINI E. and HUEHNS E.R. (1963)

Electrophoretic analysis of the non-haemoglobin proteins of human red cells.
Clin. Chim. Acta. 8, 127.

HUISMAN T.J.H. (1963)

Normal and abnormal human hemoglobins. In advances in clinical chemistry, vol. 6, p. 231. Academic Press, New-York and London.

STURGEON P., SCHROEDER W.A., JONES R.T. and BERGREN W.R. (1963)

The relation of the alkali-resistant haemoglobin in thalassaemia and abnormal haemoglobin syndromes to foetal haemoglobin.
Brit. J. Haemat. 9, 438.

SUNDERMAN W.F. (1963)

Studies of abnormal hemoglobins. I. Procedure for quantitation of hemoglobins separated by means of starch gel electrophoresis.
Amer. J. Clin. Path., 40, 227.

CHARACHE S. and CONLEY C.L. (1964)

Rate of sickling of red cells during deoxygenation of blood from persons with various sickling disorders.
Blood 24, 25.

PRICLOSI A. et GIUFFRÉ L.

Type immuno-électrophorétique et autoradiographique des protéines sériques se combinant à l'Hb.
Acta. Haemat. Avril 1965, t. 33, pp. 210-219.

ooOoo

STRUCTURE, SYNTHÈSE ET RÉGULATION DE L'HEMOGLOBINE

RIETTI E. (1946)

Haemolytic anaemias with increased osmotic resistance of the erythrocytes.

Acta. Med. Scand. 125, 451.

PAULING L., ITANO H.A., SINGER S.J. and WELLS I.C. (1949)

Sickle-cell anemia, a molecular disease.

Science 110, 543.

RICH A. (1952)

Studies on the hemoglobin of Cooley's anemia and Cooley's trait.

Proc. Nat. Acad. Sci. (Washington), 38, 187.

ROCHE J., DERRIEN Y., DIANCONO G. and ROQUES M. (1953)

Sur les hémoglobines humaines au cours des thalassémies.

Mineure maladie de Rietti, Greppi, Micheli et Majeure (anémie de Cooley).

C.R. Soc. Biol. (Paris) 147, 771.

SPAET T.H.

Identification des hémoglobines anormales au moyen de l'électrophorèse sur papier.

Jour. Lab. Clin. Med., 1953, t. 41, p. 161.

WATSON J.D. and CRICK F.H.C. (1953)

Molecular structure of nucleic acids. A structure for desoxyribose nucleic acid.

Nature (London) 171, 737.

KUNKEL H.G. and WALLENIUS G. (1955)

New hemoglobin in normal adult blood.

Science 122, 288.

STURGEON P., ITANO H.A. and BERGREN W.R. (1955)

Genetic and biochemical studies of "intermediate" types of Cooley's anaemia.

Brit. J. Haemat. 1, 264.

NEEL J.V. (1956)

The genetics of human haemoglobin differences : problems and perspectives.
Ann. Human. Genet. 21, 1.

RABINOWITZ M. and OLSON M.E. (1956)

Evidence for a ribonucleoprotein intermediate in the synthesis of globin by reticulocytes.
Exper. Cell Res. 10, 747.

DREYFUS J.C.

Les hémoglobines anormales.
Revue française d'Etudes Cliniques et Biologiques 1957 - t. 2, 382-412.

KUNKEL H.G., CEPPELLINI R., MÜLLER-EBERHARD U. and WOLF J. (1957)

Observations on the minor basic hemoglobin component in blood of normal individuals and patients with thalassemia.
J. Clin. Invest. 36, 1615.

MALASSENET R.

Les hémoglobines humaines.
Revue hématologique 1957, pp. 64-100, t. 12.

RHINESMITH H.S., SCHROEDER W.A. and PAULING L. (1957)

A qualitative study of the hydrolysis of human dinitrophenyl (D.N.P.) globin : the number and kind of polypeptide chains in normal adult hemoglobin.
J. Amer. Chem. Soc. 79, 4682.

BERGREN W.R. (1958)

Discussion. Genetic aspects of abnormal hemoglobins.
Conference on Hemoglobin. Nat. Acad. Sci., Washington, National Research Publ. 557, p. 274.

BORSOOK H. (1958)

Hemoglobin synthesis in reticulocytes.
Conference on Hemoglobin. Nat. Acad. Sci., Washington, National Research Publ. 557, p. 111.

HUNT J.A., INGRAM V.M. (1958)

Abnormal haemoglobins II. The chymotryptic digestion of the trypsin resistant core of haemoglobins A and S.
Biochim. Biophys. Acta. 28, 546.

GROUCHY J., SCHAPIRA G., DREYFUS J.C.

Electrophorèse des hémoglobines sur gel d'amidon.
Revue française. Etudes Clin. Biol. 1958, 4, 377-380.

LABIE D., ROSA J., DREYFUS J.C., SCHAPIRA G.

Etude de l'hémoglobine A₂ du sujet normal, et au cours des différentes formes de thalassémie, par l'électrophorèse à travers gel d'amidon.

Revue française. Etudes clin., Biol., 1958, 5, 481-484.

MOORE S., SPACKMAN D.H., STEIN W.H.

Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino-acids.

Feder. Proc. 1958, 17, 1107-1115.

SCHROEDER W.A. and MATSUDA G.J. (1958)

N-terminal residues of human fetal hemoglobin.

J. Amer. Chem. Soc. 80, 1521.

SMITH E.W. and TORTBERT J.V. (1958)

Two abnormal hemoglobins with evidence for a new genetic locus for hemoglobin formation.

Bull. Johns Hopkins Hosp. 102, 38.

BRENNER S. (1959)

The mechanism of gene action. Biochemistry of human genetics. Ciba Foundation Symposium (ed. Wolstenholme G.E.W. and O'Connor C.M.), p. 304. Little, Brown and Co., Boston.

HOAGLAND M.B. (1959)

The present status of the adaptor hypothesis. Structure and function of genetic elements.

Brooklaven Natl. Lab. Symp. 12, 40.

INGRAM V.M. and STRETTON A.O.W. (1959)

The genetic basis of the thalassaemia diseases.

Nature (London) 184, 1903.

ITANO H.A., SINGER S.J. and ROBINSON E.A. (1959)

Chemical and genetical units of the haemoglobin molecule.

In Biochemistry of Human Genetics.

Ciba Foundation Symposium (ed. Wolstenholme G.E.W. and O'Connor C.M.), p. 96. Little, Brown and Co., Boston, Mass.

NEEL J.V. (1959)

Genetic aspects of abnormal haemoglobins. In abnormal haemoglobins.

A Symposium (ed. Jonxis J.H.P. and Delafresnaye J.F.), p. 158. Blackwell Scientific Publications, Ltd., Oxford.

BAGLIONI C., INGRAM V.M. and SULLIVAN E. (1960)

Genetic control of foetal and adult human haemoglobin.
Nature (London) 189, 467.

ITANO H.A. and ROBINSON E.A. (1960)

Genetic control of the α and β chains of hemoglobin.
Proc. Nat. Acad. Sci. 46, 1492.

MOTULSKY A.G. (1960)

In genetics : genetic information and the control of protein structure and function (ed. Sutton H.E.), p. 159. Josiah Macy Jr. Foundation, New-York.

MULLER C.J. and JONXIS J.H.P. (1960)

Identity of haemoglobin A₂.
Nature (London) 188, 949.

PERUTZ M.F., ROSSMANN M.G., CULLIS A.F., MUIRHEAD H., WILL G. and NORTH A.C.T. (1960)

Structure of haemoglobin.
Nature (London) 185, 416.

RAYMOND S., WANG Y.J.

Préparation properties of acrylamide gel for use in electrophoresis.
Anal. Biochem., 1960, 1, 391.

VINOGRAD J.R. and HUTCHINSON W.D. (1960)

Carbon-14 labelled hybrids of haemoglobin.
Nature 187, 216.

CEPPELLINI R. (1961)

Genetics of human haemoglobins.
2 nd International Conf. Human Genetics, Roma, p. E. 55.
Excerpta Medica Foundation, New-York.

CRICK F.H.C., BARNETT L., BRENNER S. and WATTS-TOBIN R.J. (1961)

General nature of the genetic code for proteins.
Nature (London) 192, 1227.

GERALD P.S. and INGRAM V.M. (1961)

Recommendations for the Nomenclature of hemoglobin.
Science 134, 2037.

GROS F., HIATT H., GILBERT W., KURLAND C.G., RISEBROUGH P.W., WATSON J.D. (1961)

Unstable ribonucleic acid revealed by pulse labelling of E. coli.
Nature 190, 581.

INGRAM V.M. (1961)

Gene evolution and the hemoglobins.
Nature (London) 189, 704.

INGRAM V.M. and STRETTON A.O.W. (1961)

Human haemoglobin A₂ chemistry, genetics and evolution.
Nature (London) 190, 1079.

JACOB F. and MONOD J. (1961)

Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins.
J. Mol. Biol. 3, 318.

KONIGSBERG W., GUIDOTTI G. and HILL R.J. (1961)

The amino acid sequence of the α chain of human hemoglobin.
J. Biol. Chem. 236, 55.

NEEL J.V. (1961)

The haemoglobin genes ; a remarkable example of the clustering
of related functions on a single mammalian chromosome.
Blood 18, 769.

NIRENBERG M.W. and MATTHAEI J.H. (1961)

The dependence of cell-free protein synthesis upon naturally
occurring or synthetic polyribonucleotides.
Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.) 47, 1538.

ORNSTEIN L.

Dise electrophoresis, part I. Theory, preprinted by canalco
and distillation.
Products Industries, 1961, p. 1.

SCHWARTZ H.C., GOUDSMIT R., HILL R.L., CARTWRIGHT G.E. and WINTROBE M.M.
(1961)

The biosynthesis of hemoglobin from iron, protoporphyrin and
globin.
J. Clin. Invest. 40, 188.

VON EIRENSTEIN G. and LIPMANN F. (1961)

Experiments of hemoglobin biosynthesis.
Proc. Nat. Acad. Sci. 47, 941.

WEATHERALL D.J. and BOYER S.H. (1961)

The genetic control of the α chains of human hemoglobins.
Trans. Assoc. Amer. Physic. 74, 89.

ZUELZER W.W., ROBINSON A.R. and BOOKER C.R. (1961)

Reciprocal relationship of hemoglobin A₂ and F in beta chain thalassemia, a key to the genetic control of hemoglobin F.
Blood 17, 393.

BORSOOK H., LINGREL J.B., SCARO J.L. and MILLETTE R.L. (1962)

Synthesis of haemoglobin in relation to the maturation of erythroid cells.
Nature (London) 196, 347.

CHAPPEVILLE F., LIPMANN G., VON EHRENSTEIN G., WEISBLUM B., RAY J. Jr. and BENZER S. (1962)

On the role of soluble ribonucleic acid in coding for amino acids.
Proc. Nat. Acad. Sci. 48, 1086.

DANCE N. and HUEHNS E.R. (1962)

Investigation of a haemoglobin consisting of γ F chains prepared from normal cord blood.
Biochem. J. 83, 40 p.

MARKS P.A., BURKA E.R. and SCHLESINGER D. (1962)

Protein synthesis in erythroid cells I. Reticulocyte ribosomes active in stimulating amino acid incorporation.
Proc. Nat. Acad. Sci. 48, 2163.

MATTHAEI J.H., JONES O.W., MARTIN R.G. and NIRENBERG M.W. (1962)

Characteristics and composition of R.N.A. coding.
Proc. Nat. Acad. Sci. 48, 666.

MOTULSKI A.G. (1962)

Controller genes in synthesis of human haemoglobin.
Nature (London) 194, 607.

NAUGHTON M.A. and DINTZIS H.M. (1962)

Sequential biosynthesis of the peptide chains of hemoglobin.
Proc. Nat. Acad. Sci. 48, 1822.

SMITH E.L. (1962)

Peptide base coding and amino acid replacements in proteins.
Proc. Nat. Acad. Sci. 40, 677.

SMITHIES O., CONNELL G.E. and DIXON G.D. (1962)

Chromosomal rearrangements and the evolution of haptoglobin genes.
Nature (London) 196, 232.

STRETTON A.O.W. (1962)

Amino acid sequence of the δ chain. In conference on hemoglobin. Arden House, Columbia University, New-York.

WARNER J.R., KNOPF P.M., RICH A. (1963)

A multiple ribosomal structure in protein synthesis.
Proc. Natl. Acad. Sci. 49, 122.

WEISBLUM B., DENZER S., HOLLEY R.W. (1962)

A physical basis for degeneracy in the amino acid code.
Proc. Nat. Acad. Sci. 48, 1449.

WEATHERALL D.J. (1962)

The thalassemia syndromes M.D.
Thesis, University of Liverpool.

BURKA E.R. and MARKS P.A. (1963)

Ribosomes active in proteins synthesis in human reticulocytes :
a defect in thalassemia major.
Nature (London) 199, 706.

BURKA E.R. and MARKS P.A. (1963)

Factors involved in erythroid maturation. Protein synthesis
and R.N.A. metabolism.
Blood 22, 808.

GOLDSTEIN J., KONIGSBERG W. and HILL R.J. (1963)

The structure of human hemoglobin IV. The sequence of the
amino acids in the tryptic peptides of the β chain.
J. Biol. Chem. 238, 2028.

HARDESTY B., HUTTON J.J., ARLINGHAUS R., SCHWEET R. (1963)

Polyribosomes formation and haemoglobin synthesis.
Proc. Natl. Acad. Sc. 50, 1078.

INGRAM V.M. (1963)

Biochemical genetics at a molecular level.
Amer. J. Med. 34, 674.

NANCE W.E. (1963)

Genetic control of hemoglobin synthesis.
Science 141, 123.

SCHROEDER W.A., SHELTON R., SHELTON J.P., CORMICK J. and JONES R.T. (1963)

The amino acid. sequence of the γ chain of human fetal hemoglobin.
Biochemistry 2, 992.

STEINER M., BALDINI M. and DAMASHEK W. (1963)

Heme synthesis in "refractory" anemias with ineffective erythropoiesis.
Blood 22, 810.

STEINER M., BALDINI M. and DAMASHEK W. (1963)

Enzymic defects of heme synthesis in thalassemia. Problems in Cooley's anemia.
Ann. New-York. Acad. Sci. 119, 548.

TONDO C.V., SALZANO F.M., RUCKNAGEL D.L. (1963)

Hemoglobin porto alegre, a possible polymer of normal hemoglobin in a caucasian Brazilian family.
Am. J. Hum. Genet. 15, 265.

VON EHRENSTEIN G. (1963)

On the biosynthesis of hemoglobin in reticulocyte ribosomes. Recent Progress in Microbiology VIII p. 116, University of Toronto Press.

VON EHRENSTEIN G., WEISBLUM B. and BENZER S.

The function of S R.N.A. as amino acid adaptor in the synthesis of hemoglobin.
Proc. Nat. Acad. Sci. 49, 669.

WARNER J.R., KNOTT P.M. and RICH A. (1963)

Multiple ribosomal structure in protein synthesis.
Proc. Nat. Acad. Sci. (Washington) 49, 122.

BAGLIONI C. (1964)

Control of hemoglobin synthesis.
Human genetics 29 th Cold spring Harbour. Symposium on quantitative biology (In press).

FESSAS Ph. and LOUKOPOULOS D. (1964)

Alpha chain of human hemoglobin : occurrence in vivo.
Science 143, 590.

HEYWOOD D.J., KARON M. and WEISSMAN S. (1964)

Amino acids : incorporation into α and β chains of hemoglobin by normal and thalassemia reticulocytes.
Science 146, 530.

HUEHNS E.R. (1964)

Human embryonic haemoglobins.
Human genetics, 29 th cold spring harbour symposium on quantitative biology. In press.

JACOB F., MONOD J. (1964)

Genetic repression allosteric inhibition and cellular differentiation in : Cito-differentiation and macromolecular synthesis.
M. Locke, ed. Academic Press.

JONES R.T. (1964)

Structural studies of amino-ethylated hemoglobins by automatic peptide chromatography.
Cold Sp. Har Symp. Quant. Biol., 1964, 29.

KRUH J., DREYFUS J.C., SCHAPIRA G. (1964)---

Activation de la synthèse acellulaire de l'hémoglobine par l'acide ribonucléique I. Action de l'acide ribonucléique total de réticulocytes.
Biochim. Biophys. Acta 87, 253.

MARKS P.A. and BURKA E.R. (1964)

Hemoglobins A and F. : formation in thalassemia and other hemolytic anemias.
Science 144, 552.

NECHELES F.F., BALDINI M. and DAMASHEK W. (1964)

In vitro studies of globin synthesis in thalassemia.
Fed. Proc. 23, 182.

SCHAPIRA G., PADIEU P., MALEKNIA N., DREYFUS J.C., KRUH J. (1964)

Preuve de l'orientation de la spécificité de la synthèse de l'hémoglobine par un facteur réticulocytaire soluble.
C.R. Acad. Sci. 258, 2221.

STENT G.S. (1964)

The operon : on its third anniversary.
Science 144, 816.

VAVRA J.D. and MAYER V.K. (1964)

In vitro porphyrin synthesis by human blood. Porphyrin synthesis by thalassemia erythrocytes.
J. Lab. Clin. Med. 63, 754.

VAVRA J.D., MAYER V.K. and MOORE C.V. (1964)

In vitro heme synthesis by human blood, abnormal heme synthesis in thalassemia major.
J. Lab. Clin. Med. 63, 736.

ZUCKERKANDL E. (1964)

Controller gene disease.
J. Mol. Biol. 8, 128.

HUENHNS E.R. (1965)

Thalassemia.

Postgrad. M.E.D. J. 41, 718.

ITANO H.A. (1965)

The synthesis and structure of normal and abnormal hemoglobins.
In C.I.O.M.S. Symposium on abnormal haemoglobins and enzyme
Deficiency, p. 3, Oxford. Blackwell.



EDITIONS A.G.E.M.P.

8 RUE DANTE

- PARIS V* -

ODÉ 58-90